

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202292073** (13) **A1**

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

(43) Дата публикации заявки
2022.11.15

(51) Int. Cl. *A23L 27/20* (2016.01)

(22) Дата подачи заявки
2021.03.24

(54) **СТРУКТУРИРОВАННЫЕ КОМПОЗИЦИИ ВЫСОКОБЕЛКОВЫХ АНАЛОГОВ МЯСА С ВКУСОАРОМАТИЧЕСКИМИ ВЕЩЕСТВАМИ НА ОСНОВЕ МИКРОБНЫХ ГЕМОВ**

(31) 63/001,215

(32) 2020.03.27

(33) US

(86) PCT/US2021/023949

(87) WO 2021/195259 2021.09.30

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

(72) Изобретатель:

Робертсон Дэн И., Рид Джон С. (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) Описаны структурированные пищевые композиции, такие как композиции аналогов мяса, которые содержат белковые продукты из микроорганизмов, такие как гидролизаты белков, полученные из микроорганизмов. Также описаны способы получения таких продуктов. Также описаны композиции усилителей вкуса, которые содержат гемсодержащие полипептиды, такие как флавогемоглобин, из микроорганизмов, и пищевые композиции, такие как композиции аналогов мяса, которые содержат композиции гемсодержащих усилителей вкуса.

202292073

A1

A1

202292073

СТРУКТУРИРОВАННЫЕ КОМПОЗИЦИИ ВЫСОКОБЕЛКОВЫХ АНАЛОГОВ МЯСА С ВКУСОАРОМАТИЧЕСКИМИ ВЕЩЕСТВАМИ НА ОСНОВЕ МИКРОБНЫХ ГЕМОВ

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[01] Данная заявка заявляет приоритет согласно предварительной заявке на патент США № 63/001,215, поданной 27 марта 2020 года, которая включена в данный документ в полном объеме посредством ссылки.

ОБЛАСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[02] Данное изобретение относится к структурированным пищевым композициям, которые содержат белковые продукты из микроорганизмов, таким как структурированные композиции аналогов мяса, которые подходят для употребления человеком или животными и которые точно имитируют свойства мяса и используются как продукты-аналоги мяса, в частности структурированные композиции аналогов мяса, которые содержат гемсодержащие полипептиды, продуцируемые микроорганизмами, которые катализируют образование вкусов или ароматов, подобных мясу, при нагревании.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[03] Употребление в пищу мяса животного происхождения является частью повседневной жизни многих людей. Неблагоприятное воздействие мясной диеты на здоровье человека и окружающую среду хорошо задокументировано. Существует растущий потребительский спрос на альтернативные продукты, богатые белком, которые не получены от животных, но которые обладают схожими текстурными и вкусоароматическими характеристиками с мясом животных и аналогичными функциональными свойствами мяса животных, но без вредных для здоровья компонентов, связанных с мясом, таких как насыщенные жирные кислоты и холестерин, и без вредного воздействия животноводства на окружающую среду.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[04] В данном документе описаны структурированные пищевые продукты, такие как структурированные мясные продукты, *например*, структурированные продукты-аналоги мяса, и способы производства таких продуктов.

[05] В одном аспекте предложен гемсодержащий белковый продукт (*например*, белок одноклеточных организмов, гидролизат белка, лизат клеток, изолят белка, экстракт белка,

пептиды, олигопептиды или выделенный гемсодержащий белок), полученный из микроорганизма. При нагревании гемсодержащий белковый продукт, полученный из микроорганизма, высвобождает гем, который вступает в реакцию с органическими соединениями, такими как сахара и/или аминокислоты, например, в структурированном мясном продукте, для придания желаемого вкуса и/или аромата, например, вкуса и/или аромата, имитирующих вкус и/или аромат мяса. В некоторых вариантах реализации данного изобретения гемсодержащий белковый продукт может быть получен из водородокисляющего микроорганизма такого как, но не ограничиваясь этим, микроорганизм *Cupriavidus*. В некоторых вариантах реализации данного изобретения водородокисляющий микроорганизм выращивают в условиях ограничения O₂.

[06] В одном аспекте предложен гемсодержащий белковый продукт, при этом содержание гема в гемсодержащем белковом продукте составляет от около 1% (масс./масс.) до около 15% (масс./масс.), от около 1% (масс./масс.) до около 10% (масс./масс.), от около 1% (масс./масс.) до около 9% (масс./масс.), от около 1% (масс./масс.) до около 8% (масс./масс.), от около 1% (масс./масс.) до около 7% (масс./масс.), от около 1% (масс./масс.) до около 6% (масс./масс.), от около 1% (масс./масс.) до около 5% (масс./масс.), от около 2% (масс./масс.) до около 10% (масс./масс.), от около 3% (масс./масс.) до около 10% (масс./масс.), от около 4% (масс./масс.) до около 10% (масс./масс.), или от около 5% (масс./масс.) до около 10% (масс./масс.), *т.е.*, при расчете по массе. В некоторых вариантах реализации данного изобретения содержание гема в гемсодержащем белковом продукте составляет, по меньшей мере, около 0,5% (масс./масс.), по меньшей мере около 1,0% (масс./масс.), по меньшей мере около 2,0% (масс./масс.), по меньшей мере около 3% (масс./масс.), по меньшей мере около 4% (масс./масс.), по меньшей мере около 5% (масс./масс.), по меньшей мере около 6% (масс./масс.), по меньшей мере около 7% (масс./масс.), по меньшей мере около 8% (масс./масс.), по меньшей мере около 9% (масс./масс.), по меньшей мере около 10% (масс./масс.), или по меньшей мере около 15% (масс./масс.). В некоторых вариантах реализации данного изобретения такой гемсодержащий белковый продукт используют в качестве ингредиента для получения структурированного пищевого продукта в соответствии со способами и композициями, описанными в данном документе. В некоторых вариантах реализации данного изобретения полученный структурированный пищевой продукт имеет содержание гема от около 0,1% (масс./масс.) до около 3% (масс./масс.), от около 0,1% (масс./масс.) до около 2% (масс./масс.), от около 0,1% (масс./масс.) до около 1,5% (масс./масс.), от около 0,1% (масс./масс.) до около 1% (масс./масс.), от около 0,1% (масс./масс.) до около 0,9% (масс./масс.), от около 0,1%

(масс./масс.) до около 0,8% (масс./масс.), от около 0,1% (масс./масс.) до около 0,7% (масс./масс.), от 0,1% (масс./масс.) до около 0,6% (масс./масс.), от около 0,1% (масс./масс.) до около 0,5% (масс./масс.), от около 0,2% (масс./масс.) до около 1,5% (масс./масс.), от около 0,3% (масс./масс.) до около 1,5% (масс./масс.), от около 0,4% (масс./масс.) до около 1,5% (масс./масс.), от около 0,5% (масс./масс.) до около 1,5% (масс./масс.), от около 0,5% (масс./масс.) до около 3% (масс./масс.), от около 1% (масс./масс.) до около 2% (масс./масс.) или от около 2% (масс./масс.) до около 3% (масс./масс.).

[07] В одном аспекте предложен структурированный пищевой продукт, содержащий белковый продукт, полученный из микроорганизма. В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизм включает или представляет собой один или более микроорганизмов, выращенных в хемоавтотрофных условиях. В одном варианте реализации данного изобретения микроорганизм, *например*, выращенный в хемоавтотрофных условиях микроорганизм, включает или представляет собой микроорганизм *Cupriavidus*.

[08] В некоторых вариантах реализации данного изобретения структурированный пищевой продукт содержит белковый продукт, полученный из первого микроорганизма, выращенного на источнике питания, который содержит белковый продукт из второго микроорганизма. В одном варианте реализации данного изобретения второй микроорганизм, включает или представляет собой микроорганизм *Cupriavidus*. Например, первый микроорганизм может представлять собой микроорганизм, обычно рассматриваемый как безопасный (GRAS, generally recognized as safe), и необязательно второй микроорганизм может представлять собой микроорганизм, который не является GRAS.

[09] В некоторых вариантах реализации данного изобретения структурированный пищевой продукт содержит белковый продукт, полученный из микроорганизма, который не является генетически модифицированным организмом (не является ГМО). В некоторых вариантах реализации данного изобретения структурированный пищевой продукт не содержит биомолекул животного происхождения, таких как белки, липиды, и/или углеводы животного происхождения.

[10] В некоторых вариантах реализации данного изобретения структурированный пищевой продукт содержит белковый продукт, который включает одно или более из: белок одноклеточных организмов, лизат клеток, изолят белка, экстракт белка, гидролизат белка, свободные аминокислоты, пептиды, олигопептиды или их комбинации, из одного или более микроорганизмов. В одном варианте реализации данного изобретения белковый продукт включает или представляет собой гидролизат белка из одного или более

микроорганизмов. В некоторых вариантах реализации данного изобретения структурированный пищевой продукт включает, по меньшей мере, от около 5% до около 50%, или от около 10% до около 50%, или от около 20% до около 50%, или от около 30% до около 50% белка по массе от белкового продукта микроорганизмов. В некоторых вариантах реализации данного изобретения белковый продукт содержит один или более гемсодержащих белков.

[11] В некоторых вариантах реализации данного изобретения структурированный пищевой продукт содержит белковый ингредиент не животного происхождения, содержащий или состоящий из белка одноклеточных организмов, лизата клеток, изолята белка, экстракта белка, гидролизата белка, свободных аминокислот, пептидов, олигопептидов или их комбинаций, при этом такой белковый ингредиент придает одно или более полезных функциональных свойств структурированному пищевому продукту.

[12] В некоторых вариантах реализации данного изобретения структурированный пищевой продукт представляет собой структурированный продукт-аналог мяса, такой как, но не ограничиваясь этим, структурированный продукт-аналог говядины, птицы, свинины, рыбы, баранины или морепродуктов (*например*, крабов, креветок, омаров). Например, структурированный продукт-аналог мяса может воспроизводить текстуру и/или органолептическую характеристику натурального мяса. В некоторых вариантах реализации данного изобретения продукт-аналог мяса имитирует структуру мясного фарша или мышечного мяса. В некоторых вариантах реализации данного изобретения структурированный продукт-аналог мяса содержит одно или более вкусоароматическое вещество, такое как флавогемопротеиновое вкусоароматическое вещество. В одном варианте реализации данного изобретения структурированный аналог мяса содержит флавогемопротеиновое вкусоароматическое вещество, продуцируемое микроорганизмом. В некоторых вариантах реализации данного изобретения структурированный продукт-аналог мяса содержит белковый продукт, полученный из микроорганизма, выращенного в хемоавтотрофных условиях, или полученный из микроорганизма, выращенного в среде, которая содержит белковый продукт, полученный из микроорганизма, выращенного в хемоавтотрофных условиях. В одном варианте реализации данного изобретения микроорганизм, выращенный в хемоавтотрофных условиях, включает или представляет собой микроорганизм *Cupriavidus*.

[13] В некоторых вариантах реализации данного изобретения структурированный пищевой продукт, такой как, но не ограничиваясь этим, структурированный продукт-аналог мяса, дополнен одним или более веществами, такими как витамин, питательное вещество или вещество с полезными функциональными свойствами. Например, дополнительное

вещество (вещества) может включать одно или более из аминокислот, липидов, масел, жирных кислот, витамина В₁₂ или других витаминов, биотина, антиоксидантов, минералов, поверхностно-активных веществ и эмульгаторов.

[14] В другом аспекте предложена композиция теста для производства структурированного пищевого продукта, как описано в данном документе, *например*, структурированного пищевого продукта, который содержит белковый продукт из микроорганизма. В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизм включает или представляет собой один или более микроорганизмов, выращенных в хемоавтотрофных условиях. В одном варианте реализации данного изобретения микроорганизм, *например*, выращенный в хемоавтотрофных условиях микроорганизм, включает или представляет собой микроорганизм *Cupriavidus*.

[15] В некоторых вариантах реализации данного изобретения композиция теста содержит белковый продукт, полученный из первого микроорганизма, выращенного на источнике питания, который содержит белковый продукт из второго микроорганизма. В одном варианте реализации данного изобретения второй микроорганизм, включает или представляет собой микроорганизм *Cupriavidus*. Например, первый микроорганизм может представлять собой микроорганизм, обычно рассматриваемый как безопасный (GRAS), и необязательно второй микроорганизм может представлять собой микроорганизм, который не является GRAS.

[16] В некоторых вариантах реализации данного изобретения композиция теста содержит белковый продукт, полученный из микроорганизма, который не является генетически модифицированным организмом (не является ГМО). В некоторых вариантах реализации данного изобретения композиция теста не содержит биомолекул животного происхождения, таких как белки, липиды, и/или углеводы животного происхождения.

[17] В некоторых вариантах реализации данного изобретения композиция теста содержит белковый продукт, который содержит одно или более из: белок одноклеточных организмов, лизат клеток, изолят белка, экстракт белка, гидролизат белка, свободные аминокислоты, пептиды, олигопептиды или их комбинации, из одного или более микроорганизмов. В одном варианте реализации данного изобретения белковый продукт включает или представляет собой гидролизат белка из одного или более микроорганизмов. Например, средняя молекулярная масса белков в гидролизате может составлять от около 5 кДа до около 10 кДа. В некоторых вариантах реализации данного изобретения композиция теста содержит гидролизат белка, полученный в условиях, сохраняющих неденатурированный глобулярный белок, таких как, например, мягкий лизис клеток и физическое отделение растворимых веществ (*например*, белков) от

твердых веществ (*например*, клеточного дебриса).

[18] В некоторых вариантах реализации данного изобретения композицию теста, *например*, содержащую частично или полностью гидролизованный белковый продукт, полученный из одного или более микроорганизмов, добавляют ко второму белковому продукту, чтобы способствовать структурированию и/или образованию волокон. Неограничивающие примеры второго белкового продукта включают один или более белков пшеничной клейковины, сои, гороха, пшеницы, молока, водорослей и других белков неживотного происхождения.

[19] В некоторых вариантах реализации данного изобретения содержание воды в композиции теста составляет от около 40% (масс./масс.) до около 80% (масс./масс.). В некоторых вариантах реализации данного изобретения прочность теста на сдвиг составляет, по меньшей мере, около 1000 фунтов на кв. дюйм.

[20] В другом аспекте предложен способ производства структурированного пищевого продукта, *например* структурированного продукта-аналога мяса. Способ включает: (а) культивирование микроорганизма в присутствии источника углерода с получением таким образом биомассы, содержащей белок; (b) превращение биомассы в белковый продукт; и (с) переработку белкового продукта в структурированную пищевую композицию.

[21] В некоторых вариантах реализации данного изобретения этап (а) включает хемоавтотрофные условия культивирования. Например, условия хемоавтотрофного культивирования могут включать газообразную молекулу C1, такую как CO₂, в качестве источника углерода. В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизм, выращенный в условиях хемоавтотрофного культивирования, включает или представляет собой микроорганизм *Cupriavidus*.

[22] В некоторых вариантах реализации данного изобретения белковый продукт, полученный на этапе (b), включает одно или более из: белок одноклеточных организмов, лизат клеток, изолят белка, экстракт белка, гидролизат белка, свободные аминокислоты, пептиды, олигопептиды или их комбинации.

[23] В некоторых вариантах реализации данного изобретения этап (с) включает переработку белкового продукта в композицию теста. Например, может быть применен термохимический процесс, такой как экструзия. В некоторых вариантах реализации данного изобретения этап (с) может включать процесс формования, в результате которого получают волокна. В некоторых вариантах реализации данного изобретения этап (с) может включать образование структурированного гидроколлоида.

[24] В некоторых вариантах реализации данного изобретения структурированный пищевой продукт, полученный на этапе (с), представляет собой структурированный продукт-аналог

мяса, такой как структурированный продукт-аналог говядины, птицы, свинины, рыбы, баранины или морепродуктов (*например*, крабов, креветок, омаров). Например, структурированный продукт-аналог мяса может воспроизводить текстуру и/или органолептическую характеристику натурального мяса. В некоторых вариантах реализации данного изобретения продукт-аналог мяса имитирует структуру мясного фарша или мышечного мяса. В некоторых вариантах реализации данного изобретения структурированный продукт-аналог мяса содержит одно или более вкусоароматическое вещество, такое как флавогемопротеиновое вкусоароматическое вещество. В одном варианте реализации данного изобретения структурированный аналог мяса содержит флавогемопротеиновое вкусоароматическое вещество, продуцируемое микроорганизмом. В некоторых вариантах реализации данного изобретения структурированный продукт-аналог мяса содержит белковый продукт, полученный из выращенного в хемоавтотрофных условиях микроорганизма, или полученный из микроорганизма, выращенного в среде, которая содержит белковый продукт, полученный из выращенного в хемоавтотрофных условиях микроорганизма. В одном варианте реализации данного изобретения микроорганизм, выращенный в хемоавтотрофных условиях, включает или представляет собой микроорганизм *Cupriavidus*.

[25] В другом аспекте предложен термохимический процесс переработки композиции теста, как описано в данном документе, в композицию структурированного аналога мяса. Термохимический процесс включает экструдирование композиции теста, которая содержит белковый продукт, полученный из одного или более микроорганизмов, как описано в данном документе, с получением однонаправленных волокон. В некоторых вариантах реализации данного изобретения белковый продукт содержит или представляет собой гидролизат белка. В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизм, из которого получен белковый продукт, представляет собой микроорганизм, выращенный в хемоавтотрофных условиях, или микроорганизм, выращенный в среде, которая содержит белковый продукт, полученный из микроорганизма, выращенного в хемоавтотрофных условиях. Например, микроорганизм, выращенный в хемоавтотрофных условиях, включает или представляет собой микроорганизм *Cupriavidus*.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[26] На **Фиг. 1** представлен иллюстративный, не ограничивающий рабочий процесс одного из вариантов производства структурированного пищевого продукта, как описано в данном документе. ЦКБ = цельноклеточная биомасса

[27] На Фиг. 2 представлена эмульсионная способность для изолята сывороточного белка, как описано в Примере 2.

[28] На Фиг. 3 представлена эмульсионная способность для цельноклеточной биомассы (ЦКБ) как описано в Примере 2.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[29] В данном документе предложены структурированные пищевые композиции и способы их получения. Структурированные пищевые композиции, описанные в данном документе, включая структурированные композиции аналогов мяса, содержат белковые продукты (*например*, белковые продукты, которые содержат гидролизат белка или состоят из него), которые продуцируются микроорганизмами. Например, микроорганизмы, из которых получают белковые продукты, могут быть выращены в хемоавтотрофных условиях, например, на газообразном субстрате C1 в качестве источника углерода.

Определения

[30] Если не указано иное, все технические и научные термины используются в данном документе в значении, соответствующем обычному пониманию специалиста в области техники, к которой относится данное 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) предоставляет специалисту в данной области техники общий словарь многих терминов, используемых в данном изобретении. Любые способы и материалы, подобные или эквивалентные тем, что описаны в данном документе, могут использоваться при реализации или тестировании способов, систем и композиций, описанных в данном документе.

[31] Практика данного изобретения будет использовать, если не указано иное, обычные способы молекулярной биологии (включая рекомбинантные способы), микробиологии, клеточной биологии и биохимии, которые находятся в пределах компетенции специалистов в данной области техники. Такие способы 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); and Gene Transfer and Expression: A Laboratory Manual (Kriegler, 1990).

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

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

[34] Существительные в единственном числе включают соответствующие существительные во множественном числе, если в контексте явно не указано иначе, таким образом, используемые в данном документе, включая прилагаемую формулу изобретения, существительные в единственном числе следует понимать как означающее «по меньшей мере, один», если в контексте явно не указано иначе.

[35] Используемый в контексте данного документа термин «около», используемый 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 выполнения раскрытых способов или в связи с раскрытой композицией.

[36] Используемый в контексте данного документа термин «ацетоген» относится к микроорганизму, который вырабатывает ацетат и/или другие короткоцепочечные органические кислоты с длиной цепи до C4 в качестве продукта анаэробного дыхания.

[37] Используемый в контексте данного документа термин «ацидофил» относится к типу экстремофилов, которые нормально существуют и размножаются в очень кислых условиях (обычно при pH 2,0 или ниже).

[38] Используемый в контексте данного документа термин «аминокислота» относится к молекуле, содержащей как аминогруппу, так и карбоксильную группу, которые связаны с углеродом, который обозначен альфа-углеродом. Подходящие аминокислоты включают, но не ограничиваются ими, как D-, так и L-изомеры встречающихся в природе аминокислот, а также не встречающиеся в природе аминокислоты, полученные органическим синтезом или с помощью других метаболических путей. В некоторых вариантах реализации данного изобретения одна «аминокислота» может иметь несколько боковых цепей, доступных на удлиненном алифатическом или ароматическом каркасе основной цепи. Если в контексте явно не указано иное, используемый в данном документе термин «аминокислота» включает аналоги аминокислот.

[39] Используемую в контексте данного документа, включая описание и формулу изобретения, фразу «и/или» следует понимать как означающую «один или оба» из элементов, соединенных таким образом, т.е. элементы, которые в одних случаях присутствуют совместно, а в других — отдельно. Необязательно могут присутствовать другие элементы, отличные от элементов, конкретно указанных в предложении «и/или», независимо от того, связаны они или не связаны с этими элементами, конкретно

указанными, если в контексте явно не указано иное. Таким образом, в качестве неограничивающего примера ссылка на «А и/или В», при использовании в сочетании с ничем не ограниченным выражением, таким как «содержащий», может относиться в одном варианте реализации данного изобретения к А без В (необязательно включая элементы, отличные от В); в другом варианте реализации - к В без А (необязательно включая элементы, отличные от А); в еще другом варианте реализации - как к А, так и к В (необязательно включая другие элементы); и т.п.

[40]Используемый в контексте данного документа термин «биомасса» относится к веществу, полученному в результате роста и/или размножение клеток, таких как клетки микроорганизмов. Биомасса может содержать клетки и/или внутриклеточное содержимое, а также внеклеточный материал, включая, но не ограничиваясь ими, соединения, секретируемые клеткой.

[41]Используемый в контексте данного документа термин «биореактор» или «ферментер» относится к закрытому или частично закрытому сосуду, в котором выращивают и поддерживают клетки, такие как клетки микроорганизмов. Клетки могут, но не обязательно, содержаться в жидкой суспензии. В некоторых вариантах реализации данного изобретения вместо содержания в жидкой суспензии клетки можно альтернативно выращивать и/или поддерживать в контакте, на или внутри другого не жидкого субстрата, включая, но не ограничиваясь этим, твердое вещество для поддержания роста.

[42] 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, но не ограничиваясь этим, CO_2 , CO и CH_4 , в биохимические вещества на основе углерода, которые являются жидкими или твердыми в условиях окружающей среды, или которые растворяются в водном растворе или удерживаются в нем во взвешенном состоянии.

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

[44] Термин «карбоксидотрофные» относится к микроорганизмам, которые могут переносить или окислять монооксид углерода. В предпочтительных вариантах реализации данного документа карбоксидотрофный микроорганизм может использовать CO в качестве источника углерода и/или в качестве источника восстанавливающих электронов для биосинтеза и/или дыхания.

[45] Термин «хемоавтотрофные» 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 углекислого газа.

[46] Термин «хемолитоавтотрофные» относится к организмам, которые получают энергию от окисления неорганических соединений и используют углекислый газ в качестве единственного источника углерода для роста.

[47] В формуле изобретения, а также в описании все переходные фразы, такие как «содержащий», «включающий», «несущий», «имеющий», «содержащий в себе», «охватывающий», «состоящий из» и т.п. понимаются как ничем не ограниченные, *т.е.* означают включение, но не ограничение этим. Только переходные фразы «состоящий из» и «состоящий в основном из» должны быть замкнутыми или полу-замкнутыми переходными фразами, соответственно.

[48] Используемый в контексте данного документа термин «консорциум» относится к двум или более разным видам или штаммам микроорганизмов и/или многоклеточным организмам, которые выращены вместе, например, выращены в совместной культуре в одной и той же питательной среде.

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

[50] Термин «происходящий из» включает в себя термины «возникающий в результате», «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.

[51] Используемый в контексте данного документа термин «тесто» относится к смеси сухих ингредиентов («сухая смесь»; *например*, белки, углеводы и липиды, включая жидкие масла) и жидких ингредиентов («жидкая смесь», *например*, вода или сок, *например*, жидкий экстракт из источника не животного происхождения, такого как растение или любая часть растения). Тесто может также содержать один или более дополнительных белковых продуктов со структурными и/или функциональными свойствами, которые придают или улучшают качество структурирования теста, *например*, в процессе сдвига.

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

[53] Термин «экстремофил» относится к микроорганизму, который нормально существует и размножается 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.

[54] Термин «функциональные свойства», «функциональные характеристики» или «функциональность» или аналогичные дескрипторы относятся к тому, как пищевые ингредиенты ведут себя во время подготовки и приготовления, и как они влияют на готовый пищевой продукт с точки зрения его внешнего вида, вкуса, ощущений и обработки. Функциональные свойства могут включать водопоглощение, водорастворимость, индексы маслопоглощения, индекс расширения, насыпную плотность, вязкость, связывание, аэрацию, загущение, схватывание, подкрашивание, декстринизацию, карамелизацию, гелеобразование, денатурацию, коагуляцию, эмульсионную способность или стабильность эмульсии.

[55] Термин «газификация» относится, как правило, к высокотемпературному процессу, в ходе которого материалы на основе углерода преобразуются в смесь газов, содержащую водород, монооксид углерода и диоксид углерода, называемую синтез-газ, сингаз или генераторный газ. 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.

[56] Термин «галофил» относится к типу экстремофилов, которые нормально существуют и размножаются в среде с очень высокой концентрацией соли.

[57] Термин «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 растительная или животная материя, *т.е.*, не фиксируют углерод из неорганических источников, таких как двуокись углерода.

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

[59] Термин «гипертермофил» относится к типу экстремофилов, которые нормально существуют и размножаются в чрезвычайно жарких климатических условиях на протяжении всей жизни, обычно около $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($140\text{ }^{\circ}\text{F}$) или выше.

[60] Термин «гремучий газ» («knallgas») относится к смеси молекулярного водорода и газообразного кислорода. Термин «водородокисляющие микроорганизмы» относится к микроорганизмам, которые могут 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 «оксигород» и «водородный микроорганизм» могут быть использованы как синонимы терминов «гремучий газ» и «водородокисляющий микроорганизм», соответственно. Водородокисляющие микроорганизмы обычно используют молекулярный водород с помощью гидрогеназ, при этом часть электронов, полученных от H_2 , используется для восстановления НАД⁺ (и/или других внутриклеточных восстанавливающих эквивалентов), и часть электронов от H_2 используется для аэробного дыхания. Водородокисляющие микроорганизмы обычно автотрофно фиксируют CO_2 посредством путей, включая цикл Кальвина или обратный цикл лимонной кислоты, но не ограничиваясь ими [“Thermophilic bacteria”, Jakob Kristjansson, Chapter 5, Section III, CRC Press, (1992)].

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

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

[63] Используемый в контексте данного документа термин «аналог мяса», или «заменитель мяса», или «имитация мяса», или «искусственное мясо» относится к пищевому продукту, который не получен от животного или содержит значительное количество неживотного

источника белка, но имеет структуру, текстуру, эстетические качества, и/или другие свойства, сравнимые или подобные свойствам мяса животных. Термин относится к сырым, кулинарным и приготовленным мясopodobным пищевым продуктам.

[64] Термин «метаноген» относится к микроорганизму, который вырабатывает метан как продукт анаэробного дыхания.

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

[66] Термины «микроорганизм» и «микроб» означают микроскопические одноклеточные формы жизни, такие как бактериальные и грибковые микроорганизмы.

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

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

[69] Используемый в контексте данного документа как в описании, так и в формуле изобретения, термин «или» следует понимать как имеющий то же значение, что и «и/или» как определено выше. Например, при разделении элементов в списке терминами «или» или «и/или» они должны интерпретироваться как включающие, т. е. включение, по меньшей мере, одного элемента, но также включение более одного элемента из числа или списка элементов и, необязательно, дополнительных не перечисленных элементов. Только термины, явно указывающие на обратное, такие как «только один из» или «точно один из» или, при использовании в формуле изобретения, «состоящий из», будут относиться к включению ровно одного элемента числа или списка элементов. Как правило, используемый в контексте данного документа термин «или» следует толковать только как обозначающий исключительной альтернативы (т. е. «один или другой, но не оба»), если ему предшествуют термины исключительности, такие как «любой», «один из», «только один из», или «точно один из». Термин «состоящий в основном из» при использовании в формуле изобретения имеет обычное значение, используемое в области патентного права.

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

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

[72] Используемый в контексте данного документа термин «полинуклеотид» относится к полимерной форме нуклеотидов любой длины и любой трехмерной структуры, а также к одноцепочечной или многоцепочечной структуре (например, одноцепочечной, двухцепочечной, трехспиральной и т. п.), 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 данное 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 для целей выявления или захвата, например, радиоактивные или нерадиоактивные метки или якоря, например, биотин. Термин полинуклеотид также включает пептидные нуклеиновые кислоты (ПНК). Полинуклеотиды могут встречаться в природе или не встречаться в природе. Термины «полинуклеотид», и «нуклеиновая кислота» используются в данном документе равнозначно. Полинуклеотиды могут содержать РНК, ДНК или и то, и другое, и/или их модифицированные формы, и/или аналоги. Последовательность нуклеотидов может быть прервана не нуклеотидными компонентами. Одна или более фосфодиэфирных связей могут быть заменены альтернативными связующими группами. Данные альтернативные связывающие группы включают, но не ограничиваются ими, варианты реализации, в которых фосфат заменен на P(O)S ("тиоат"), P(S)S ("дитиоат"), (O)NR₂ ("амидат"), P(O)R, P(O)OR', CO или CH₂ ("формацеталь"), где 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 аралдил. Не все связи в полинуклеотиде обязательно должны быть идентичными. Полинуклеотиды могут быть линейными или кольцевыми или содержать комбинацию линейных и кольцевых частей.

[73] Используемый в контексте данного документа 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 для аминокислотных остатков. Термины «полипептид» или «белок», используемые в данном документе взаимозаменяемо, относятся к полимерам аминокислот любой длины. Полимер может быть линейным или разветвленным, он может содержать модифицированные аминокислоты, и в него можно встроить неаминокислоты. Термины также включают аминокислотный полимер, который был модифицирован естественным путем или путем вмешательства; например, путем образования дисульфидных связей, гликозилирования, липидации, ацетилирования, фосфорилирования или любых других манипуляций или модификаций, такими как конъюгация с меченым компонентом. Также в определение включены, например, полипептиды, содержащие один или более аналогов аминокислоты (включая, например, аминокислоты не природного происхождения и тому подобное), а также другие модификации, известные в данной области техники.

[74] Термин «предшествующий» или «предшественник» является промежуточным продуктом для производства одного или более компонентов готового продукта.

[75] Термин «генераторный газ» относится к газовой смеси, содержащей различные пропорции H_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 реформинг или автореформинг углеродсодержащего сырья. В дополнение к H_2 , CO и CO_2 генераторные газы могут содержать другие компоненты, включая, но не ограничиваясь этим, 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.

[76] Термин «продуцирующий» включает как внутриклеточное, так и внеклеточное продуцирование соединений, включая секрецию соединений из клетки.

[77] «Психрофил» относится к типу экстремофилов, способных к росту и размножению при низких температурах, обычно около $10^{\circ}C$ и ниже.

[78] Используемые в контексте данного документа термины «восстановленный», «выделенный», «очищенный» и «отделенный» относятся к веществу (*например*, белку, нуклеиновой кислоте или клетке), которое удалено из, по меньшей мере, одного компонента, с которым оно связано естественным образом. Например, данные термины

могут относиться к веществу, которое по существу или в основном свободно от компонентов, которые обычно сопровождают его в нативном состоянии, как, например, интактная биологическая система.

[79] Используемый в контексте данного документа термин «структурированный мясной продукт» или «структурированный продукт-аналог мяса» или «мясной структурированный белковый продукт» относится к продукту, который включает сети белковых волокон и/или однонаправленные белковые волокна, которые создают текстуру, похожую на мясо, с необязательной последующей обработкой после создания и фиксации волокнистой и/или однонаправленной структуры (*например*, гидратацией, маринованием, сушкой, окрашиванием). Способы определения степени сформированности сети белковых волокон и/или однонаправленности белковых волокон известны в данной области техники и включает визуальное определение на основе фотографий и микрографических изображений, как представлено, например, в публикации патента США № 2015/029683 A1, который включен в данный документ посредством ссылки.

[80] Фраза «по существу свободный» или «в основном свободный» в отношении любого данного компонента означает, что такой компонент присутствует, если вообще присутствует, только в количестве, которое является функционально незначительным количеством, *т.е.* не оказывает существенного отрицательного влияния на предполагаемые характеристики или функции любого процесса или продукта. Как правило, по существу свободный 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 существу свободный» или «в основном свободный» означают менее 1% компонента.

[81] Термин «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.

[82] «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 , а также соотношения и уровня примесей для синтеза определенного типа химического продукта, например, 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 способов, включая: паровую конверсию метана; или путем газификации любого органического, легковоспламеняющегося материала на основе углерода, включая, но не

ограничиваясь этим, 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 CO₂ в смеси сингаза.

[83] Термин «термофил» относится к типу экстремофилов, которые нормально существуют и размножаются при относительно высоких температурах на протяжении всей жизни, обычно от около 45 °C до около 122 °C.

[84] Термин «дикий тип» относится к микроорганизму, встречающемуся в природе.

[85] Термин «выход» относится к количеству продукта, полученного из сырьевого вещества, 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 как % произведенного продукта по отношению к теоретическому выходу, если 100% сырьевого вещества было превращено в продукт.

Гемовые вкусоароматические вещества

[86] В данном изобретении предложены усилители вкуса пищевых продуктов, обогащенные гемом. В некоторых вариантах реализации данного изобретения усилитель вкуса придает вкус и/или аромат, имитирующий вкус мяса и/или аромат мяса при нагревании. При денатурации, *например*, во время приготовления или гранулирования, гемсодержащие полипептиды денатурируются и высвобождают железосодержащий гем, который реагирует с другими органическими молекулами (*например*, органическими молекулами в белковом продукте, полученном из микроорганизмов), такими как сахара, аминокислоты, липиды и т. д., с образованием молекул, придающих вкус и/или аромат.

[87] Усилитель вкуса пищевых продуктов может быть в форме белкового продукта (*например*, белка одноклеточных, гидролизата белка, лизата клеток, изолята белка, экстракта белка, пептидов, олигопептидов или выделенного или очищенного белка, содержащего гем, или их комбинации), полученного из микроорганизма, с высоким содержанием гемоглобина, *например*, флавогемоглобина (FHb).

[88] В некоторых вариантах реализации данного изобретения усилитель вкуса получают из хемолитоавтотрофного микроорганизма, например, микроорганизма, выращенного на CO₂ и H₂. В некоторых вариантах реализации данного изобретения усилитель вкуса получают из водородокисляющего микроорганизма, такого как, но не ограничиваясь этим, микроорганизма *Cupriavidus*, например, *Cupriavidus necator*, или из любых водородокисляющих микроорганизмов, описанных в данном документе. В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизм экспрессирует или сверхэкспрессирует FHb в условиях культивирования, в которых он выращивается, и/или

модифицирован так, чтобы продуцировать или сверхпродуцировать FНб или другой белок типа гемоглобина. Например, для экспрессии FНб можно использовать сильный промотор для усиленной продукции FНб или промотор, регулируемый O₂. В некоторых вариантах реализации данного изобретения в микроорганизм вводят гетерологичный полинуклеотид, такой как гетерологичная промоторная последовательность, *например*, сильный промотор для усиленной продукции FНб или промотор, регулируемый O₂, для усиления продукции нативной последовательности FНб. В других вариантах реализации данного изобретения микроорганизм модифицирован для экспрессии гетерологичного FНб (*например*, из другого вида, такого как другой микроорганизм). В некоторых вариантах реализации данного изобретения промотор из того же вида микроорганизмов, *например*, сильный промотор для усиленной продукции FНб или промотор, регулируемый O₂, вводят для усиленной экспрессии нативной последовательности FНб.

[89] *Cupriavidus* продуцирует растворимые и ассоциированные с мембраной белки, содержащие кофакторы гема, которые экспрессируются в условиях аэробной, микроаэробной и/или анаэробной ферментации. Типы гема, продуцируемые *Cupriavidus*, включают: гемы а-, b-, с- и d-типа с ионом железа, координированным с порфирином, действующим как тетраденатный лиганд, и с одним или двумя аксиальными лигандами, вносимыми белком.

[90] Флавогемоглобин в естественных условиях экспрессируется водородокисляющими бактериями в микроаэробных условиях и выполняет функцию захвата O₂ или функции буфера O₂ при низких концентрациях O₂. Уровень экспрессии можно контролировать, используя рабочие параметры для бактериальной культуры, такие как низкое парциальное давление O₂ для высокой экспрессии FНб. В некоторых вариантах реализации данного изобретения применяются микроаэробные условия культивирования. Например, растворенный кислород может присутствовать на уровне ниже, чем в воздухе или насыщенных воздухом растворах, например, ниже предела обнаружения стандартных датчиков растворенного кислорода, *например*, менее 1 ч./млн.

[91] Растворимый FНб *Cupriavidus* представляет собой трехдоменный мономерный белок, кодируемый бактериальным геномом. *In vivo* FНб катализирует опосредованное флавином окисление НАДН с восстановлением гема b-типа, который, в свою очередь, связывает O₂. Фермент содержит НАД(Н)-связывающий домен, домен флаводоксинредуктазного типа и глобиновый домен с гемом b-типа. Гемовый домен может быть экспрессирован отдельно. Например, укороченная форма фермента, содержащая гем, *т.е.* гем-домен, может быть экспрессирована в микроорганизме и восстановлена.

[92] Гемсодержащие усилители вкуса пищевых продуктов, как описано в данном

документе, могут быть включены в любые пищевые композиции, такие как композиции аналогов мяса, описанные в данном документе. Усилитель вкуса придает мясной вкус и/или аромат во время приготовления (*т.е.* при нагревании).

[93] Гемсодержащие усилители вкуса пищевых продуктов (*например*, гемсодержащие полипептиды), как описано в данном документе, могут быть переработаны из микроорганизмов в виде белка одноклеточных, гидролизата белка, лизата клеток, изолята белка, экстракта белка, пептидов или олигопептидов или их комбинации, полученных из микроорганизмов, и/или могут быть выделены или очищены из микроорганизмов и введены в пищевую композицию в очищенном виде. В одном варианте реализации данного изобретения полипептид гем-домена получают из микроорганизмов в виде белка одноклеточных, гидролизата белка, лизата клеток, изолята белка, экстракта белка, пептидов или олигопептидов или их комбинации, полученных из микроорганизмов, и/или он может быть выделен или очищен из микроорганизмов и введен в пищевую композицию в очищенном виде.

Структурированные пищевые продукты

[94] В данном документе предложены структурированные пищевые продукты. Структурированные пищевые продукты включают белковый продукт микробного происхождения. Белковый продукт получают из микроорганизма, такого как бактериальный или грибковый микроорганизм. К структурированным пищевым продуктам относятся пищевые структуры, которые образуются при смешивании пищевых ингредиентов и их обработке для получения пищевого продукта, *т.е.* съедобного продукта для потребления человеком или животными.

[95] В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизм представляет собой микроорганизм, выращенный в хемоавтотрофных условиях, такой как микроорганизм, выращенный на газообразном источнике углерода C1, таком как CO₂, CO или CH₄, или микроорганизм, выращенный в среде, которая содержит белковый продукт, полученный из микроорганизма, выращенного в хемоавтотрофных условиях. Хемоавтотрофный микроорганизм может представлять собой любой хемоавтотрофный микроорганизм, описанный в данном документе *ниже*. В некоторых неограничивающих вариантах реализации данного изобретения хемоавтотрофный микроорганизм представляет собой микроорганизм *Cupriavidus*, такой как *Cupriavidus necator* или *Cupriavidus metallidurans*.

[96] В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизм представляет собой GRAS-микроорганизм, такой как любой из GRAS-микроорганизмов, описанных в

данном документе *ниже*, такой как молочнокислая бактерия (МКБ, LAB). В некоторых вариантах реализации данного изобретения GRAS-микроорганизм выращивают в среде, которая содержит белковый продукт, полученный из микроорганизма, не относящегося к GRAS. Микроорганизм, не относящийся к GRAS, может представлять собой, например, микроорганизм, выращенный в хемоавтотрофных условиях, такой как, например, микроорганизм *Cupriavidus*, такой как *Cupriavidus necator* или *Cupriavidus metallidurans*.

[97] Белковый продукт микробного происхождения в структурированном пищевом продукте может содержать одно или более из: белок одноклеточных организмов, лизат клеток, изолят белка, экстракт белка, гидролизат белка, свободные аминокислоты, пептиды и олигопептиды. Белковый продукт, *например*, любой из описанных в данном документе белковых продуктов, может быть включен в структурированную пищевую композицию в количестве, равном, по меньшей мере, около 5% (масс./масс.), 10% (масс./масс.), 15% (масс./масс.), 20% (масс./масс.), 25% (масс./масс.), 30% (масс./масс.), 35% (масс./масс.), 40% (масс./масс.), 45% (масс./масс.), 50% (масс./масс.), 55% (масс./масс.), 60% (масс./масс.), 65% (масс./масс.) или 70% (масс./масс.). В некоторых вариантах реализации данного изобретения полученный содержание белка микробного происхождения в структурированном пищевом продукте составляет от около 5% (масс./масс.) до около 50% (масс./масс.), от около 5% (масс./масс.) до около 10% (масс./масс.), от около 10 % (масс./масс.) до около 15 % (масс./масс.), от около 15 % (масс./масс.) до около 20 % (масс./масс.), от около 20 % (масс./масс.) до около 25 % (масс./масс.), от около 25% (масс./масс.) до около 30% (масс./масс.), от около 30% (масс./масс.) до около 35% (масс./масс.), от около 35% (масс./масс.) до около 40% (масс./масс.), от около 40% (масс./масс.) до около 45% (масс./масс.), от около 45% (масс./масс.) до около 50% (масс./масс.), от около 5% (масс./масс.) до около 15% (масс./масс.), от около 10% (масс./масс.) до около 20% (масс./масс.), от около 15% (масс./масс.) до около 25% (масс./масс.), от около 20% (масс./масс.) до около 30% (масс./масс.), от около 25% (масс./масс.) до около 35% (масс./масс.), от около 30% (масс./масс.) до около 40% (масс./масс.), от около 35% (масс./масс.) до около 40% (масс./масс.), от около 40% (масс./масс.) до около 50% (масс./масс.), от около 5% (масс./масс.) до около 25% (масс./масс.), от около 20% (масс./масс.) до около 40% (масс./масс.) или от около 25% до около 50% (масс./масс.). Белковый продукт может содержать, по меньшей мере, от около 5% (масс./масс.) до около 50% (масс./масс.) белка одноклеточных организмов, по меньшей мере, от около 5% (масс./масс.) до около 50% (масс./масс.) лизата клеток, по меньшей мере, от около 5% (масс./масс.) до около 50% (масс./масс.) экстракта белка, по меньшей мере от около 5% (масс./масс.) до около 50%

(масс./масс.) изолята белка, по меньшей мере, от около 5% (масс./масс.) до около 50% (масс./масс.) гидролизата белка, по меньшей мере, от около 5% (масс./масс.) до около 50% (масс./масс.) свободных аминокислот, по меньшей мере, от около 5% (масс./масс.) до около 50% (масс./масс.) пептидов, по меньшей мере, от около 5% (масс./масс.) до около 50% (масс./масс.) олигопептидов, по меньшей мере, от около 25% (масс./масс.) до около 80% (масс./масс.) белка одноклеточных, по меньшей мере, от около 25% (масс./масс.) до около 80% (масс./масс.) лизата клеток, по меньшей мере, от около 25% (масс./масс.) до около 80% (масс./масс.) экстракта белка, по меньшей мере, от около 25% (масс./масс.) до около 80% (масс./масс.) изолята белка, по меньшей мере, от около 25% (масс./масс.) до около 80% (масс./масс.) гидролизата белка, по меньшей мере, от около 25% (масс./масс.) до около 80% (масс./масс.) свободных аминокислот, по меньшей мере, от около 25% (масс./масс.) до около 80% (масс./масс.) пептидов, по меньшей мере, от около 25% (масс./масс.) до около 80% (масс./масс.) олигопептидов, по меньшей мере, от около 75% (масс./масс.) до около 100% (масс./масс.) белка одноклеточных, по меньшей мере, от около 75% (масс./масс.) до около 100% (масс./масс.) лизата клеток, по меньшей мере, от около 75% (масс./масс.) до около 100% (масс./масс.) экстракта белка, по меньшей мере, от около 75% (масс./масс.) до около 100% (масс./масс.) изолята белка, по меньшей мере, от около 75% (масс./масс.) до около 100% (масс./масс.) гидролизата белка, по меньшей мере, от около 75% (масс./масс.) до около 100% (масс./масс.) свободных аминокислот, по меньшей мере, от около 75% (масс./масс.) до около 100% (масс./масс.) пептидов и/или, по меньшей мере, от около 75% (масс./масс.) до около 100% (масс./масс.) олигопептидов.

[98] Структурированный пищевой продукт, описанный в данном документе, может представлять собой аналог натурального пищевого продукта и может содержать реологические и структурные (геометрические и поверхностные) характеристики пищевого продукта, такие как характеристики, воспринимаемые с помощью механических, тактильных и/или зрительных рецепторов. Параметры структуры пищевого продукта включают, например: клейкость, упругость, ломкость, пузырчатость, жевательность, липкость, обволакивание, когезивность, кремообразность, хрустящность, рассыпчатость, жесткость, густоту, тестообразность, сухость, эластичность, жирность, плотность, слоеность, мясистость, воздушность, пенистость, хрупкость, насыщенность вкуса, слащавость, зернистость, комковатость, тягучесть, твердость, крепость, неоднородность, сочность, постность, легковесность, вялость, комковатость, влажность, обволакивающую способность, кашеобразность, маслянистость, пастообразность, пластичность, пористость, порошкообразность, рыхлость, мясистость, калорийность, шершавость, резинистость, текучесть, песочность, грубость и т. д.

[99] В некоторых вариантах реализации данного изобретения структурированный пищевой продукт представляет собой продукт-аналог мяса, *например*, структурированный, напоминающий по текстуре или внешнему виду натуральный мясной продукт, полученный от животного. Например, продукт-аналог мяса может представлять собой аналог любого продукта из говядины, птицы (*например*, курицы, индейки, утки), свинины, рыбы или морепродуктов. Аналог мяса может быть в форме натурального мясного продукта, такого как бургер, наггетс и т. д., и может воспроизводить текстуру и/или органолептическую (*т.е.* затрагивающую один или более органов чувств) характеристику натурального мясного продукта.

[100] Продукт-аналог мяса может имитировать структуру натурального фарша или мышечного мяса. Мышечное мясо естественно структурировано отдельными миоцитами, собранными в анизотропные волокна. Процессы обработки волокнистого вещества с использованием микробного белкового продукта, как описано в данном документе, могут привести к трехмерной имитации строения натурального мяса. Способы структурирования включают, но не ограничиваются ими, самосборку, искусственную сборку или их комбинацию, а также направленную самосборку.

[101] В некоторых вариантах реализации данного изобретения белковые волокна в основном однонаправленные. Сети белковых волокон и/или выравненные белковые волокна могут придавать целостность и прочность, тогда как открытые пространства в сетях белковых волокон и/или однонаправленных белковых волокнах могут сделать мясные структурированные белковые продукты мягче и создать карманы для захвата воды, углеводов, солей, липидов, вкусоароматических веществ и других веществ, которые медленно высвобождаются во время жевания, что облегчает процесс измельчения и придает другие мясо-подобные органолептические характеристики.

[102] Структурированный пищевой продукт, *например* структурированный аналог мяса, может содержать одно или более вкусоароматических веществ. В некоторых вариантах реализации данного изобретения структурированный пищевой продукт, *например*, структурированный мясной продукт, может содержать флавогемопротеиновое вкусоароматическое вещество. В некоторых вариантах реализации данного изобретения флавогемопротеин продуцируется микроорганизмом, из которого получают белковый продукт. В одном варианте реализации флавогемопротеин и белковый продукт продуцируются микроорганизмом *Cupriavidus*, таким как *Cupriavidus necator* или *Cupriavidus metallidurans*.

[103] В некоторых вариантах реализации данного изобретения структурированный пищевой продукт, *например* структурированный продукт-аналог мяса, содержит один или

более дополнительных витаминов, питательных веществ или функциональных веществ, *т.е.* веществ, добавленных в состав (*например*, тесто) при производстве структурированного пищевого продукта, или добавленных в питательную среду для роста микроорганизма, из которого получают белковый продукт, или веществ, которые могут продуцироваться микроорганизмом, из которого получают белковый продукт. Неограничивающие примеры таких добавок включают аминокислоты (*например*, незаменимые аминокислоты), липиды, масла, жирные кислоты, витамины (*например*, витамин В₁₂, биотин, другие незаменимые витамины), антиоксиданты, минералы, поверхностно-активные вещества и эмульгаторы.

[104] В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизм, из которого белковый продукт включается в структурированную пищевую композицию, *например*, структурированную композицию аналога мяса, не является ГМО.

[105] В некоторых вариантах реализации данного изобретения структурированная пищевая композиция, *например*, структурированная композиция аналога мяса, не содержит материал или вещества животного происхождения, такие как биомолекулы или биохимические вещества животного происхождения. В некоторых вариантах реализации данного изобретения, *например*, в заменителе мяса или продукте-аналоге мяса, гидрогель, липогель, и/или эмульсия включены в композицию, *например*, в качестве системы высвобождения агента (*например*, для высвобождения красителя, ароматизатора, жирной кислоты, разрыхлителя и/или желирующего агента (*например*, бикарбоната (*например*, бикарбоната калия), гидроксида кальция и/или альгината (*например*, альгината натрия или калия)), при этом агент(ы) могут высвободиться во время приготовления пищевого продукта для имитации мяса животных).

[106] В некоторых вариантах реализации данного изобретения структурированный пищевой продукт содержит один или более источников растительного белка, таких как, но не ограничиваясь ими, горох, рис, клейкий рис, пшеница, глютен, соя, конопля, канола, насекомые, водоросли и/или гречневая крупа в сочетании с белковым продуктом, продуцируемым микроорганизмами, как описано в данном документе (*например*, в сочетании с одним или более белком одноклеточных, лизатом клеток, изолятом белка, экстрактом белка, гидролизатом белка, свободными аминокислотами, пептидами, олигопептидами или их комбинациями), при этом белковый продукт придает вкус пищевой композиции, такой как, *например*, мясной вкус.

[107] В некоторых вариантах реализации данного изобретения пищевой продукт, *например*, заменитель мяса или продукт-аналог мяса, содержит гемовое соединение, такое как гемсодержащий полипептид. В одном варианте реализации данного изобретения

пищевой продукт содержит гем (*например*, гемсодержащий полипептид) из микроорганизма, из которого получают белковый продукт. В некоторых вариантах реализации данного изобретения гемсодержащий полипептид находится в форме белкового продукта (*например*, одного или более белка одноклеточных организмов, гидролизата белка, лизата клеток, изолята белка, экстракта белка, пептидов, олигопептидов и выделенного гемсодержащего белка), полученного из водородокисляющего микроорганизма, такого как, например, *Cupriavidus*, или любых других водородокисляющих микроорганизмов, описанных в данном документе. В некоторых вариантах реализации данного изобретения водородокисляющий микроорганизм выращивают в условиях ограничения O₂, таких как условия низкого парциального давления O₂, *например*, микроаэробные условия.

[108] В некоторых вариантах реализации данного изобретения структурированный продукт-аналог мяса (*например*, продукт-аналог говядины, птицы, свинины, рыбы или морепродуктов) содержит белковый продукт, продуцируемый микроорганизмами, как описано в данном документе (*например*, одно или более из: белок одноклеточных организмов, лизат клеток, изолят белка, экстракт белка, гидролизат белка, свободные аминокислоты, пептиды, олигопептиды или их комбинации). В некоторых вариантах реализации данного изобретения продукт-аналог мяса представляет собой веганский продукт, который не содержит каких-либо ингредиентов животного происхождения. В некоторых вариантах реализации данного изобретения предложен улучшенный мясной продукт, который содержит животный белок (*например*, говядина, птица, свинина, рыба, морепродукты или яичный продукт, в котором часть продукта представляет собой белковый ингредиент продукта, продуцируемый микроорганизмами, как описано в данном документе (*например*, одно или более из: белок одноклеточных организмов, лизат клеток, изолят белка, экстракт белка, гидролизат белка, свободные аминокислоты, пептиды, олигопептиды или их комбинации). Например, белковый продукт может быть включен в качестве наполнителя в улучшенный мясной продукт или в продукт-аналог мяса, *например*, белковый продукт заменяет, по меньшей мере, около 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, или 70% мясного ингредиента или искусственного или имитационного мясного ингредиента (*например*, растительного искусственного или имитационного аналога мясного ингредиента) для производства улучшенного мясного продукта или аналога мяса /имитационного мясного продукта, соответственно. В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизмы представляют собой микроорганизмы, выращенные на CO₂или воздухе, *например*, водородные микроорганизмы. Неограничивающие примеры продуктов-аналогов мяса представлены в патентах США №

10,327,464, 10,314,325, 10,287,568, 10,273,492, 10,172,380, 10,172,381, 10,093,913, 10,087,434, 10,039,306, 9,943,096, 9,938,327, 9,833,768, 9,826,772, 9,808,029, 9,737,875, 9,700,067 и 9,011,949, которые включены в данный документ в полном объеме посредством ссылки.

[109] В некоторых вариантах реализации данного изобретения, по меньшей мере, часть или весь белковый продукт в структурированном пищевом продукте, описанном в данном документе, включая, но не ограничиваясь этим, продукт-аналог мяса, содержит белковый продукт (*например*, одно или более из: белок одноклеточных организмов, лизат клеток, изолят белка, экстракт белка, гидролизат белка, свободные аминокислоты, пептиды, олигопептиды или их комбинации), полученный из микроорганизма *Cupriavidus*, такого как, но не ограничиваясь этим, *Cupriavidus necator*, *например*, DSM 531 или DSM 541.

[110] В некоторых вариантах реализации данного изобретения, по меньшей мере, часть или весь белковый продукт в пищевом продукте, описанном в данном документе, включая, но не ограничиваясь этим, продукт-аналог мяса, содержит белковый продукт (*например*, одно или более из: белок одноклеточных организмов, лизат клеток, изолят белка, экстракт белка, гидролизат белка, свободные аминокислоты, пептиды, олигопептиды или их комбинации), полученный из молочнокислых бактерий, таких как, но не ограничиваясь ими, бактерии *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus* или *Pediococcus*. В некоторых вариантах реализации данного изобретения молочнокислая бактерия представляет собой GRAS-бактерию.

[111] В некоторых вариантах реализации данного изобретения, по меньшей мере, часть или весь белковый продукт в пищевом продукте, описанном в данном документе, включая, но не ограничиваясь этим, продукт-аналог мяса, содержит белковый продукт (*например*, одно или более из: белок одноклеточных организмов, лизат клеток, изолят белка, экстракт белка, гидролизат белка, свободные аминокислоты, пептиды, олигопептиды или их комбинации), полученный из грибкового микроорганизма рода *Fusarium* или *Rhizopus*, такого как, но не ограничиваясь ими, *Fusarium venenatum*, *Rhizopus oligosporus* или *Rhizopus oryzae*. В некоторых вариантах реализации данного изобретения грибковый микроорганизм представляет собой GRAS-микроорганизм.

Продукты-аналоги мяса

[112] В данном документе предложены продукты-аналоги мяса, которые напоминают мясо животных. Продукт-аналог мяса содержит белковый продукт (*например*, одно или более из: белок одноклеточных организмов, лизат клеток, изолят белка, экстракт белка, гидролизат белка, свободные аминокислоты, пептиды, олигопептиды или их комбинации),

полученный из одного или более 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.

[113] В некоторых вариантах реализации данного изобретения аналог мяса содержит, по меньшей мере, около 10%, около 15%, около 20%, около 25%, около 30%, около 35%, около 40%, около 45%, около 50%, около 55%, около 60%, около 65% или около 70% по массе микробного белкового продукта, как описано в данном документе, необязательно связанного вместе одним или более связующими агентами, для получения пищевого продукта, имеющего одну или более схожих текстурных и/или функциональных характеристик с мясом животных. В некоторых вариантах реализации данного изобретения аналог мяса напоминает мясо животных, например, фарш из мяса животных (*например*, фарш из говядины, фарш из свинины, фарш из индейки). В некоторых вариантах реализации данного изобретения продукт-аналог мяса в основном, по существу или полностью состоит из ингредиентов, полученных из источников неживотного происхождения. В альтернативных вариантах реализации данного изобретения аналог мяса состоит из ингредиентов, частично полученных из животных источников, но дополненных ингредиентами, полученными из неживотных источников. В некоторых вариантах реализации продукт-аналог мяса дополнительно содержит одну или более систем высвобождения агента и/или другие ингредиенты. В различных вариантах реализации данного изобретения продукты-аналоги мяса, описанные в данном документе, могут быть нарезаны ломтиками, разрезаны на куски, измельчены, нашинкованы, натерты на терке или обработаны иным образом или оставлены необработанными. Примеры нарезанных форм включают, но не ограничиваются ими, сушеное мясо, консервированное мясо и нарезанная ломтиками мясная нарезка. В некоторых вариантах реализации данного изобретения пищевые продукты-аналоги мяса, представленные в данном документе, измельчают, а затем связывают вместе, разделяют на куски и формируют, измельчают и формируют или крошат и формируют, например, для получения продукта, похожего по внешнему виду и текстуре на джерки животного происхождения.

[114] В некоторых вариантах реализации данного изобретения продукты-аналоги мяса являются веганскими. В некоторых вариантах реализации данного изобретения продукты-аналоги мяса не содержат ГМО-ингредиенты. В некоторых вариантах реализации данного изобретения продукты-аналоги мяса не содержат ингредиенты, полученные из орехов. В некоторых вариантах реализации данного изобретения продукты-аналоги мяса содержат натрий, в количестве менее около 0,6% или менее около 0,5% по массе. В некоторых вариантах реализации данного изобретения мясоподобные пищевые продукты не

содержат глютен. В некоторых вариантах реализации данного изобретения мясоподобные пищевые продукты не содержат сою.

[115] В некоторых вариантах реализации данного изобретения пищевые продукты-аналоги мяса, предложенные в данном документе, содержат липиды от около 5% до около 30% по массе. В некоторых вариантах реализации данного изобретения продукты-аналоги мяса содержат углеводы от около 0,5% до около 10% по массе от общего количества. В некоторых вариантах реализации данного изобретения продукты-аналоги мяса содержат пищевые волокна от около 0,5% до около 5% по массе.

[116] Предложенные в данном документе продукты-аналоги мяса имеют содержание влаги (МС, moisture content), по меньшей мере, около 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% или 90% по массе. В некоторых вариантах реализации данного изобретения продукты-аналоги мяса содержат такое же МС, как и мясо животных.

[117] В некоторых вариантах реализации данного изобретения продукты-аналоги мяса содержат один или более красителей. В некоторых вариантах реализации данного изобретения продукты-аналоги мяса содержат один или более усилителей цвета. В некоторых вариантах реализации данного изобретения 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 фиолетовая 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, а также антоциан и ликопин и аннато. В некоторых таких вариантах реализации данного изобретения красители, стабилизаторы цвета и/или усилители цвета присутствуют в равных массовых соотношениях. В других таких вариантах реализации данного изобретения 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, 99:1). В некоторых вариантах реализации данного изобретения продукты-аналоги мяса содержат вещества, вызывающие покоричневение, такие как, но не ограничиваясь ими, пентоза (*например*, рибоза, арабиноза, ксилоза), гексоза (*например*, глюкоза, фруктоза, манноза, галактоза), декстрины и коммерческие вещества, вызывающие покоричневение (*например*, декстроза от red arrow, вещества, полученные из древесины).

[118] В некоторых вариантах реализации данного изобретения продукт-аналог мяса по данному изобретению содержит один или более источников растительного белка, таких как, но не ограничиваясь ими, горох, рис, клейкий рис, пшеница, глютен, соя, конопля, канола, насекомые, водоросли и/или гречневая крупа в сочетании с белковым продуктом, продуцируемым микроорганизмами, как описано в данном документе, при этом белковый продукт придает композиции мясной вкус.

[119] В некоторых вариантах реализации данного изобретения продукт-аналог мяса, описанный в данном документе, содержит гемовое соединение, такое как гемсодержащий полипептид. Например, гемовое соединение (*например*, гемсодержащий полипептид) может происходить из микроорганизма, из которого получен белковый продукт. В некоторых вариантах реализации данного изобретения гемсодержащий полипептид находится в форме белкового продукта (*например*, одного или более из: белка одноклеточных организмов, гидролизата белка, лизата клеток, изолята белка, экстракта белка, пептидов, олигопептидов и выделенного гемасодержащего белка), полученного из водородокисляющего микроорганизма, такого как, например, *Cupriavidus*, или любых других водородокисляющих микроорганизмов, описанных в данном документе. В некоторых вариантах реализации данного изобретения водородокисляющий микроорганизм выращивают в условиях ограничения O₂, таких как условия низкого парциального давления O₂, *например*, микроаэробные условия.

Композиции теста

[120] В данном документе предложены композиции теста для производства структурированного пищевого продукта, *например* структурированного продукта-аналога мяса, как описано в данном документе. Композиция теста содержит один или более белковых продуктов (*например*, белок одноклеточных организмов, лизат клеток, изолят белка, экстракт белка, гидролизат белка, свободные аминокислоты, пептиды и/или олигопептиды), полученных из одного или более микроорганизмов, как описано в данном документе, а также может содержать, например, связующие вещества, соли, текстурирующие агенты и т. д. Смесь также может быть дополнена одним или более вкусоароматическими веществами и/или усилителями вкуса, таким как, например, флавогемоглобин, одним или более витаминами и/или одной или более пищевыми добавками, как описано в данном документе *выше*. Неограничивающие примеры композиций теста описаны, например, в патенте США № 9526267, который включен в данный документ в полном объеме посредством ссылки.

[121] В некоторых вариантах реализации данного изобретения тесто содержит один или

более гемсодержащих полипептидов, полученных из микроорганизма. Например, содержащийся полипептид может быть в виде белкового продукта (*например*, одного или более из: белка одноклеточных организмов, гидролизата белка, лизата клеток, изолята белка, экстракта белка, пептидов, олигопептидов и выделенного гемсодержащего белка), полученного из водородокисляющего микроорганизма, такого как, например, *Cupriavidus*, или любых других водородокисляющих микроорганизмов, описанных в данном документе. В некоторых вариантах реализации данного изобретения водородокисляющий микроорганизм выращивают в условиях ограничения O_2 , таких как условия низкого парциального давления O_2 , *например*, микроаэробные условия.

[122] В некоторых вариантах реализации данного изобретения композиция теста содержит гидролизат белка, при этом средняя молекулярная масса белков в гидролизате составляет от около 5 кДа до около 10 кДа или является любой из: около 5 кДа, 6 кДа, 7 кДа, 8 кДа, 9 кДа или 10 кДа; или любой из: от около 5 кДа до около 7 кДа, от около 6 кДа до около 8 кДа, от около 7 кДа до около 9 кДа, от около 8 кДа до около 10 кДа, от около 5 кДа до около 8 кДа или от около 7 кДа до около 10 кДа.

[123] В некоторых вариантах реализации данного изобретения белковый продукт в композиции теста получают в условиях, в которых сохраняется глобулярный неденатурированный белок. Например, такие условия могут включать умеренный лизис клеток с последующим отделением растворимых компонентов (*например*, белков) от нерастворимых компонентов (*например*, клеточного дебриса).

[124] В некоторых вариантах реализации данного изобретения тесто содержит белок из одного или более дополнительных источников, в дополнение к микробному белковому продукту, как описано в данном документе. Неограничивающие примеры источников дополнительного белка включают растительные источники (*например*, пшеничную клейковину, сою, горох, пшеницу), водоросли, другие белки неживотного происхождения или молоко.

[125] В некоторых вариантах реализации данного изобретения тесто имеет содержание воды около 40% (масс./масс.), около 45% (масс./масс.), около 50% (масс./масс.), около 55% (масс./масс.), около 60% (масс./масс.), около 65% (масс./масс.), около 70% (масс./масс.), около 75% (масс./масс.), около 80% (масс./масс.), от около 40% (масс./масс.) до около 80% (масс./масс.), от около 40% (масс./масс.) до около 50% (масс./масс.), от около 45% (масс./масс.) до около 55% (масс./масс.), от около 50% (масс./масс.) до около 60% (масс./масс.), от около 55% (масс./масс.) до около 65% (масс./масс.), от около 60% (масс./масс.) до около 70% (масс./масс.), от около 65% (масс./масс.) до около 75% (масс./масс.), от около 70% (масс./масс.) до около 80% (масс./масс.), от около 40%

(масс./масс.) до около 60% (масс./масс.), от около 50% (масс./масс.) до около 70% (масс./масс.) или от около 60% (масс./масс.) до около 80% (масс./масс.).

[126] В некоторых вариантах реализации данного изобретения прочность на сдвиг композиции теста превышает около 1000 фунтов на кв. дюйм.

[127] В некоторых вариантах реализации данного изобретения тесто представляет собой эмульсию, например, эмульсию одного или более белковых продуктов, описанных в данном документе, и одного или более масел.

Способы получения структурированных пищевых композиций

[128] В данном документе описаны способы получения структурированной пищевой композиции, такой как структурированная композиция аналога мяса. Белковый продукт (*например*, белок одноклеточных организмов, лизат клеток, изолят белка, экстракт белка, гидролизат белка, свободные аминокислоты, пептиды и/или олигопептиды), полученный из микроорганизма, перерабатывают в структурированную пищевую композицию. Один не ограничивающий вариант реализации рабочего процесса для производства структурированного пищевого продукта представлен на **Фиг.1**.

[129] Физический процесс сдвига, смешивания и/или формирования волокна можно использовать для создания деформации и выравнивания волокон белкового продукта, такого как гидролизат белка. Создание волокон требует разделения фаз вещества, за которым следует выравнивание внутренней структуры с последующим отверждением. Тип выравнивания волокон и свойства полученного структурированного материала зависят от состава материала и реологических свойств предварительно обработанного теста, водоудерживающей способности и других факторов, придающих структуру и функциональность пищевому продукту, включая водопоглощение, растворимость в воде, индексы маслопоглощения, индекс расширения, насыпную плотность и вязкость.

[130] Композиция теста, как описано в данном документе *выше*, может быть преобразована в структурированную пищевую композицию. Термохимическая обработка, *например*, экструзия, может применяться как способ структурирования белка. Например, экструзия может включать: (i) предварительную обработку материала вне экструдера; (ii) смешивание/приготовление внутри корпуса экструдера; и (iii) охлаждение в экструзионной головке. Физические факторы, влияющие на формирование структуры при экструзии, включают, например, температуру, скорость вращения шнека и конструкцию экструдера. Факторы, определяющие структуру и функциональность пищевого продукта, включают водопоглощение, растворимость в воде, индекс маслопоглощения, индекс расширения, насыпную плотность и вязкость теста. В некоторых вариантах реализации

данного изобретения экструзия композиции теста, как описано в данном документе, приводит к образованию ориентированных волокон, *т.е.* сетей белковых волокон и/или однонаправленных белковых волокон, из которых получают структурированный пищевой продукт, такой как продукт с мясоподобной текстурой. Например, композицию теста обрабатывают в экструдере с регулируемой температурой, предназначенном для обеспечения механического сдвига в геометрии конус в конусе к изотропно смешанной композиции теста с образованием макроскопической анизотропной смеси с, по существу, однонаправленной волокнистой структурой. Неограничивающие примеры этого процесса описаны, например, в патенте США № 9526267, который включен в данный документ в полном объеме посредством ссылки.

[131] Экструзия с высоким содержанием влаги может привести к денатурации белков и образованию поперечных связей, которые снижают растворимость экструдированного материала. В некоторых вариантах реализации данного изобретения условия экструзии могут вызывать разрывание ранее денатурированных белковых молекул на субъединицы. Субъединицы могут впоследствии реагрегироваться в продукт, демонстрирующий характерную текстуру и микроструктуру текстурированного белка. Эта реагрегация может быть вызвана главным образом межмолекулярными пептидными связями, хотя в меньшей степени могут играть роль и гидрофобные взаимодействия, а также водородные и дисульфидные связи.

[132] В некоторых вариантах реализации данного изобретения используется процесс формования волокон для переработки микробного белкового продукта в структурированную пищевую композицию. Например, раствор, содержащий белковый продукт, может быть экструдирован через фильеру и затем погружен в ванну, содержащую осадитель для белкового продукта. Замена растворителя и осадителя может привести к осаждению и отверждению экструдированной белковой фазы с образованием растянутых нитей (*например*, нитей толщиной около 20 мкм). (Dekkers, et al. (2018) *Trends Food Sci Technol* 81:25-36)

[133] В некоторых вариантах реализации данного изобретения превращение белкового продукта в структурированный пищевой продукт включает образование структурированного гидроколлоида. Структурированный гидроколлоид может быть получен из смеси белкового продукта микробного происхождения, как описано в данном документе, например гидролизата белка, и гидроколлоида, который осаждается катионами металлов, *например*, при повышенной температуре, образуя волокнистый продукт. Неограничивающие примеры гидроколлоидов включают пектины, например, в форме альгинатов или камедей.

[134] Отверждение структурированной пищевой композиции, полученной описанным в данном документе способом, может включать нагревание, охлаждение, сушку и/или коагуляцию.

Гидролизаты белков

[135] В некоторых вариантах реализации данного изобретения, по меньшей мере, часть или весь белковый продукт получают путем гидролиза белка (*например*, белка одноклеточных организмов, лизата клеток, изолята белка и/или экстракта белка), по меньшей мере, из одного микроорганизма, описанного в данном документе. Например, при гидролизе клеточного белка могут образовываться пептиды, олигопептиды и/или свободные аминокислоты.

[136] Гидролиз микробного белка может быть осуществлен кислотными, основными и/или ферментативными процессами. Способы гидролиза белка хорошо известны в данной области техники. Неограничивающие примеры способов микробного гидролиза белка и композиций гидролизата можно найти в заявке РСТ № US20/50902, поданной 15 сентября 2020 г., которая включена в данный документ в полном объеме посредством ссылки.

[137] В некоторых вариантах реализации данного изобретения 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 содержать подходящее количество биомассы в жидкости, например микробной биомассы в питательной среде для выращивания. В некоторых вариантах реализации данного изобретения количество биомассы, сухая масса/реакционный объем, составляет, по меньшей мере, около 0,1%, по меньшей мере, около 0,2%, по меньшей мере, около 0,5%, по меньшей мере, около 1%, по меньшей мере, около 2%, по меньшей мере, около 3% или от около 0,1 до около 8%, *напр.*, 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%, включая от около 3% до около 5%.

[138] В некоторых вариантах реализации данного изобретения клетки в биомассе подвергают лизису в начале процесса, *например*, перед повышением или понижением рН, для облегчения сбора белка из биомассы в суспензионную композицию.

[139] В некоторых вариантах реализации данного изобретения щелочную или кислотную суспензию можно подвергать нагреванию в течение подходящего периода времени для получения композиции гидролизата белка. Суспензия может быть сконцентрирована, высушена (*например*, лиофилизирована) или использована непосредственно в виде

жидкой суспензии. В некоторых вариантах реализации данного изобретения щелочную или кислотную суспензию подвергают нагреванию и повышенному давлению, *например*, путем автоклавирования щелочной или кислотной суспензии, для получения композиции гидролизата белка. В некоторых вариантах реализации данного изобретения суспензию нейтрализуют буфером для снижения или повышения pH после воздействия нагреванием или нагреванием/повышением давления. В некоторых вариантах реализации данного изобретения pH снижается (для щелочной суспензии) или повышается (для кислотной суспензии) в достаточной степени, чтобы сделать возможной последующую ферментативную обработку суспензии гидролитическим ферментом, таким как протеаза (*например*, щелочная протеаза, кислая протеаза или металлопротеаза). После ферментативного гидролиза получают композицию гидролизата белка. В других вариантах реализации данного изобретения суспензию биомассы гидролизуют протеолитическим ферментом, таким как протеаза (*например*, щелочная протеаза, кислая протеаза или металлопротеаза), без предварительной обработки щелочью или кислотой.

[140] В некоторых вариантах реализации данного изобретения гидролизованный белок в гидролизате белка находится преимущественно в растворимой фракции суспензии. Полученную суспензию можно осветлить, *например*, центрифугированием, чтобы получить надосадочную фракцию, содержащую гидролизованный белок. В некоторых вариантах реализации данного изобретения 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 вещества в суспензии, *напр.*, разделение растворимых и нерастворимых фракций. Суспензию можно осветлить любым подходящим способом, таким как центрифугирование, фильтрация и т.д. В некоторых вариантах реализации данного изобретения после осветления суспензии, *например*, путем центрифугирования, надосадочную жидкость можно отделить от осадка.

[141] В некоторых вариантах реализации данного изобретения осветленную жидкую композицию (*например*, растворимую фракцию, такую как супернатант отделенной суспензии), которая содержит гидролизованный белок, сушат, *например*, лиофилизируют, с получением сухой или по существу сухой композиции. В некоторых вариантах лиофилизированная композиция имеет содержание воды около 10% или менее, *например*, около 8% или менее, около 6% или менее, около 5% или менее, включая около 3% или менее. В некоторых вариантах реализации данного изобретения композиция лиофилизированного гидролизата белка имеет содержание воды от около 1% до около 10%, *напр.*, от около 1% до около 8%, от около 1% до около 6%, включая от около 2% до

около 5%.

[142] В некоторых вариантах реализации данного изобретения осветленную жидкую композицию (*например*, растворимую фракцию, такую как надосадочная жидкость отделенной суспензии) обезвоживают или концентрируют для снижения содержания воды. В некоторых вариантах реализации данного изобретения концентрированная композиция имеет содержание воды около 80% или менее, *например*, около 75% или менее, около 50% или менее, около 40% или менее, включая около 30% или менее; и в некоторых вариантах реализации данного изобретения 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 степени, в которой указанные выше диапазоны превышают указанные более низкие пределы). В некоторых вариантах реализации данного изобретения обезвоженный продукт сушат, *например*, с использованием нагревания и/или выпаривания, используя такой способ, как, но не ограничиваясь этим, один или более из: распылительная сушка; сушка в барабанной сушилке; сушка в печи; вакуумная сушка; сушка в вакуумной печи; сушка инертным газом, например, N₂; и выпаривание с использованием солнечной энергии. В некоторых вариантах реализации данного изобретения осветленный продукт сначала обезвоживают с помощью ротационного испарителя, *например*, так, что удаляется от около 50% до около 65% влаги. В некоторых вариантах реализации данного изобретения дальнейшее обезвоживание достигается путем лиофилизации, *например*, таким образом, что лиофилированная композиция гидролизата белка имеет содержание воды от около 1% до около 10%, *например*, от около 1% до около 8%, от около 1% до около 6%, включая от около 2 % до около 5%.

[143] В некоторых вариантах реализации данного изобретения, по меньшей мере, часть или весь белок, из которого получают гидролизат белка (*например*, белок одноклеточных организмов, лизат клеток, изолят белка и/или экстракт белка) получают из микроорганизма рода *Cupriavidus*, такого как, но не ограничиваясь этим, *Cupriavidus necator*, *например*, DSM 531 или DSM 541. В некоторых вариантах реализации данного изобретения композиция гидролизата белка (*например*, содержащая пептиды, олигопептиды и/или свободные аминокислоты) получена из белка микроорганизма *Cupriavidus*, такого как, но не ограничиваясь этим, *Cupriavidus necator*, *например*, DSM 531 или DSM 541.

[144] В некоторых вариантах реализации данного изобретения, по меньшей мере, часть или весь белок, из которого получают гидролизат белка (*например*, белок одноклеточных

организмов, лизат клеток, изолят белка и/или экстракт белка) получают из молочнокислой бактерии, такой как, но не ограничиваясь этим, бактерии *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus* или *Pediococcus*. В некоторых вариантах реализации данного изобретения композиция гидролизата белка (*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 реализации данного изобретения молочнокислая бактерия представляет собой GRAS-бактерию.

[145] В некоторых вариантах реализации данного изобретения, по меньшей мере, часть или весь белок, из которого получают гидролизат белка (*например*, белок одноклеточных организмов, лизат клеток, изолят белка и/или экстракт белка) получают из грибкового микроорганизма рода *Fusarium* или *Rhizopus*, такого как, но не ограничиваясь этим, *Fusarium venenatum*, *Rhizopus oligosporus* или *Rhizopus oryzae*. В некоторых вариантах реализации данного изобретения композиция гидролизата белка (*например*, содержащая пептиды, олигопептиды и/или свободные аминокислоты) получена из белка грибкового микроорганизма *Fusarium* или *Rhizopus*, такого как, но не ограничиваясь этим, *Fusarium venenatum*, *Rhizopus oligosporus* или *Rhizopus oryzae*.

[146] В некоторых вариантах реализации данного изобретения гидролизаты белков, описанные в данном документе, включают пептиды, которые содержат или состоят из пептидов, имеющих диапазон размеров, при котором они обычно не вызывают аллергии, *например*, не вызывают аллергии у человека. В некоторых вариантах реализации данного изобретения гидролизаты белков, которые включаются в пищевые композиции, как описано в данном документе, включают пептиды и свободные аминокислоты, при этом пептиды имеют диапазон размеров, при котором пептиды обычно не вызывают аллергии. В некоторых вариантах реализации данного изобретения пептиды, которые не вызывают аллергии, имеют размер в диапазоне от около 800 до около 1500 Да, среднее молекулярно-массовое распределение. Например, пептиды, полученные путем гидролиза белка, как описано в данном документе, могут иметь среднюю молекулярную массу менее около 1500, 1400, 1300, 1200, 1100, 1000, 900 или 800 Да.

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

Микроорганизмы

[148] Белковый материал (белковый продукт), используемый в способах и включенный в композиции, описанные в данном документе, получают из одного или более микроорганизмов. Микробные организмы, из которых получают белок одноклеточных организмов, лизат клеток, изолят белка, гидролизат белка, свободные аминокислоты, пептиды, олигопептиды или их комбинации, могут быть фотоавтотрофными, гетеротрофными, метанотрофными, метилотрофными, карбоксидотрофными или хемоавтотрофными организмами. В некоторых вариантах реализации данного изобретения микробные организмы включают водородные микроорганизмы. Микробные организмы могут быть дикого типа или могут быть генетически модифицированными (*например*, рекомбинантными) или их комбинацией.

[149] Микробная биомасса может быть собрана из культуры одного или более подходящих микроорганизмов, *например*, в ферментере или биореакторе. Биомасса может быть собрана с использованием любого подходящего способа, например, центрифугирования, для отделения клеточной массы от культуральной питательной среды. В некоторых вариантах реализации данного изобретения собранную биомассу можно использовать для получения композиции гидролизата белка. В некоторых вариантах реализации данного изобретения 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 гидролизата белка. В некоторых вариантах реализации данного изобретения белковый продукт (*например*, белок одноклеточных организмов, лизат клеток, экстракт белка, экстракт, содержащий белок, изолят белка, гидролизат белка, свободные аминокислоты, пептиды, олигопептиды или их комбинации) получают из собранной биомасса.

[150] В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизмы или их белковые продукты включают штаммы рода *Cupriavidus*, или *Ralstonia*, или *Hydrogenobacter*. В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизмы включают виды *Cupriavidus necator* или *Cupriavidus metallidurans*. В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизмы включают штаммы вида *Cupriavidus necator* DSM 531 или DSM 541. В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизмы включают вид *Cupriavidus metallidurans*. В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизмы включают штамм вида *Cupriavidus metallidurans* DSM 2839.

[151] В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизмы или их

белковый продукт включают штаммы рода *Xanthobacter*. В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизмы включают вид *Xanthobacter autotrophicus*. В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизмы включают штамм вида *Xanthobacter autotrophicus* DSM 432.

[152] В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизмы или их белковый продукт включают микроорганизмы *Rhodococcus* или *Gordonia*. В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизмы включают вид *Rhodococcus opacus*. В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизмы включают *Rhodococcus opacus* (DSM 43205) или *Rhodococcus sp.* (DSM 3346). В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизмы включают *Rhodococcus opacus*; *Hydrogenovibrio marinus*; *Rhodopseudomonas capsulata*; *Hydrogenobacter thermophilus*; или *Rhodobacter sphaeroides*. В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизмы включают штамм из семейства burkholderiaceae.

[153] В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизмы или их белковый продукт включают молочнокислые бактерии, такие как, но не ограничиваясь ими, бактерии *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus* или *Pediococcus*. В некоторых вариантах реализации данного изобретения молочнокислая бактерия представляет собой GRAS-бактерию.

[154] В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизмы или их белковый продукт включают грибковые микроорганизмы *Fusarium* или *Rhizopus*, такие как, но не ограничиваясь ими, *Fusarium venenatum*, *Rhizopus oligosporus* или *Rhizopus oryzae*. В некоторых вариантах реализации данного изобретения грибковый микроорганизм представляет собой GRAS-микроорганизм.

[155] В некоторых вариантах реализации данного изобретения консорциум микроорганизмов (*m.e.* два или более микроорганизмов, выращенных вместе) используют в качестве источника белкового продукта в способах и композициях, описанных в данном документе. Консорциум 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, описанных в данном документе. В некоторых вариантах реализации данного изобретения консорциум 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 реализации данного изобретения микроорганизм, описанный в данном документе, может накапливать белок в количестве до около 50% по

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

[157] В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизм, описанный в данном документе, может естественным образом расти на H_2/CO_2 и/или сингазе и/или генераторном газе. В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизм может естественным образом накапливать полигидроксиалканоаты (PHA) (например, полигидроксибутират (PHB)) до около 50% по массе или более от общей клеточной биомассы. В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизм обладает природной способностью направлять большой поток углерода через промежуточное соединение метаболизма ацетил-КоА, что может приводить к биосинтезу жирных кислот, наряду с рядом других путей синтеза, например, PHA, например, PHB, синтезом и/или биосинтезом аминокислот. В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизм, проявляющий эти признаки, представляет собой *Cupriavidus necator*, например, *Cupriavidus necator* DSM 531 или DSM 541). В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизм не продуцирует и/или не накапливает PHA (например, PHB).

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

[159] В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизмы или их белковые продукты включают один или более из следующих родов: *Cupriavidus*, *Rhodococcus*, *Hydrogenovibrio*., *Rhodopseudomonas*, *Hydrogenobacter*, *Gordonia*,

Arthrobacter, *Streptomyces*, *Rhodobacter* и/или *Xanthobacter*.

[160] В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизмы или их белковый продукт включают микроорганизмы класса Actinobacteria. В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизмы включают микроорганизмы подотряда corynebacterineae (*corynebacterium*, *gordoniaceae*, *mycobacteriaceae* и *nocardiaceae*). В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизмы включают микроорганизм семейства Nocardiaceae. В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизмы включают микроорганизмы, относящиеся к одной или более из следующих классификаций: *Corynebacterium*, *Gordonia*, *Rhodococcus*, *Mycobacterium* и *Tsukamurella*. В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизмы включают микроорганизмы рода *Rhodococcus*, такие как *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 triatoma*; *Rhodococcus tukisamuensis*; *Rhodococcus wratislaviensis* (синоним: *Tsukamurella wratislaviensis*); *Rhodococcus yunnanensis*; или *Rhodococcus zopfii*. В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизмы включают штамм *Rhodococcus opacus* DSM 43205 или DSM 43206. В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизмы включают штамм *Rhodococcus* sp. DSM 3346.

[161] В некоторых вариантах реализации данного изобретения 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, по меньшей мере, около 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% по массе или более от общей клеточной биомассы. В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизмы включают микроорганизм (*например*, микроорганизм любого из родов или видов микроорганизмов, описанных в данном документе), который имеет природную способность направлять большой поток углерода по пути биосинтеза жирных кислот. В некоторых вариантах

реализации данного изобретения микроорганизм, проявляющий эти признаки, представляет собой *Rhodococcus opacus* (например, *Rhodococcus opacus* DSM 43205, или DSM 43206, или DSM 44193) или *Cupriavidus necator* (например, *Cupriavidus necator* DSM 531 или DSM 541).

[162] В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизмы или их белковый продукт включают водородные или водородокисляющие микроорганизмы. В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизмы включают один или более из следующих водородокисляющих микроорганизмов: *Aquifex pyrophilus*, *Aquifex aeolicus* или другие виды *Aquifex sp.*; *Cupriavidus necator* или *Cupriavidus metallidurans* или другие виды *Cupriavidus sp.*; *Corynebacterium autotrophicum* или другие виды *Corynebacterium sp.*; *Gordonia desulfuricans*, *Gordonia polyisoprenivorans*, *Gordonia rubripertincta*, *Gordonia hydrophobica*, *Gordonia westfalica*, или другие виды *Gordonia sp.*; *Nocardia autotrophica*, *Nocardia opaca*, или другие виды *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 другие виды *Rhodopseudomonas sp.*; *Rhodobacter sp.*, *Rhodospirillum rubrum*, или другие виды *Rhodospirillum sp.*; *Rhodococcus opacus* или другие виды *Rhodococcus sp.*; *Rhizobium japonicum* или другие виды *Rhizobium sp.*; *Thiocapsa roseopersicina* или другие виды *Thiocapsa sp.*; *Pseudomonas facilis*, *Pseudomonas flava*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas hydrogenovora*, *Pseudomonas hydrogenothermophila*, *Pseudomonas palleronii*, *Pseudomonas pseudoflava*, *Pseudomonas saccharophila*, *Pseudomonas thermophile*, или другие виды *Pseudomonas sp.*; *Hydrogenomonas pantotropha*, *Hydrogenomonas eutropha*, *Hydrogenomonas facilis*, или другие виды *Hydrogenomonas sp.*; *Hydrogenobacter thermophiles*, *Hydrogenobacter halophilus*, *Hydrogenobacter hydrogenophilus*, или другие виды *Hydrogenobacter sp.*; *Hydrogenophilus islandicus* или другие виды *Hydrogenophilus sp.*; *Hydrogenovibrio marinus* или другие виды *Hydrogenovibrio sp.*; *Hydrogenothermus marinus* или другие виды *Hydrogenothermus sp.*; *Helicobacter pylori* или другие виды *Helicobacter sp.*; *Xanthobacter autotrophicus*, *Xanthobacter flavus*, или другие виды *Xanthobacter sp.*; *Hydrogenophaga flava*, *Hydrogenophaga palleronii*, *Hydrogenophaga pseudoflava*, или другие виды *Hydrogenophaga sp.*; *Bradyrhizobium japonicum* или другие виды *Bradyrhizobium sp.*; *Ralstonia eutropha* или другие виды *Ralstonia sp.*; *Alcaligenes eutrophus*, *Alcaligenes facilis*, *Alcaligenes hydrogenophilus*, *Alcaligenes latus*, *Alcaligenes paradoxus*, *Alcaligenes ruhlmannii* или другие виды *Alcaligenes sp.*; *Amycolata sp.*; *Aquaspirillum autotrophicum* или другие виды

Aquaspirillum sp.; штамм *Arthrobacter* 11/X, *Arthrobacter methylotrophus* или другие виды *Arthrobacter* sp.; *Azospirillum lipoferum* или другие виды *Azospirillum* sp.; *Variovorax paradoxus* или другие виды *Variovorax* sp.; *Acidovorax facilis* или другие виды *Acidovorax* sp.; *Bacillus schlegelii*, *Bacillus tusciae*, или другие виды *Bacillus* sp.; *Calderobacterium hydrogenophilum* или другие виды *Calderobacterium* sp.; *Derxia gummosa* или другие виды *Derxia* sp.; *Flavobacterium autothermophilum* или другие виды *Flavobacterium* sp.; *Microcyclus aquaticus* или другие виды *Microcyclus* sp.; *Mycobacterium gordoniae* или другие виды *Mycobacterium* sp.; *Paracoccus denitrificans* или другие виды *Paracoccus* sp.; *Persephonella marina*, *Persephonella guaymasensis* или другие виды *Persephonella* sp.; *Renobacter vacuolatum* или другие виды *Renobacter* sp.; *Seliberia carboxydohydrogena* или другие виды *Seliberia* sp.; *Streptomyces coelicoflavus*, *Streptomyces griseus*, *Streptomyces xanthochromogenes*, *Streptomyces thermocarboxydus* и другие виды *Streptomyces* sp.; *Thermocrinis ruber* или другие виды *Thermocrinis* sp.; *Wautersia* sp.; цианобактерии, включая, но не ограничиваясь ими, *Anabaena oscillarioides*, *Anabaena spiroides*, *Anabaena cylindrica* или другие виды *Anabaena* sp. и *Arthrospira platensis*, *Arthrospira maxima*, или другие виды *Arthrospira* sp.; зеленые водоросли, включая, но не ограничиваясь ими, *Scenedesmus obliquus* или другие виды *Scenedesmus* sp., *Chlamydomonas reinhardtii* или другие виды *Chlamydomonas* sp., *Ankistrodesmus* sp. и *Rhaphidium polymorphium* или другие виды *Rhaphidium* sp. В некоторых вариантах реализации данного изобретения консорциум микроорганизмов, который включает водородный микроорганизм, такой как любой из вышеуказанных водородных микроорганизмов, используется для производства белкового продукта, как описано в данном документе.

[163] В некоторых вариантах реализации данного изобретения 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 консорциум микроорганизмов, который содержит один или более из этих родов микроорганизмов.

[164] В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизмы или их белковый продукт включают один или более из следующих штаммов: *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 реализации данного изобретения микроорганизмы или их белковый продукт включают консорциум микроорганизмов, который содержит один или более из этих штаммов микроорганизмов, или один или более из любых родов или видов микроорганизмов, описанных в данном документе.

[165] Охарактеризован ряд различных микроорганизмов, способных расти на монооксиде углерода в качестве донора электронов и/или источника углерода (*m.e.*, карбоксидотрофные микроорганизмы). В некоторых случаях карбоксидотрофные микроорганизмы также могут использовать H_2 в качестве донора электронов и/или растут миксотрофно. В ряде случаев карбоксидотрофные микроорганизмы являются факультативными хемолитоавтотрофами [Biology of the Prokaryotes, под редакцией J Lengeler, G. Drews, H. Schlegel, John Wiley & Sons, опубликованная 10 июля 2009 г., которая включена в данный документ в полном объеме посредством ссылки]. В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизмы или их белковый продукт включают один или более из следующих карбоксидотрофных микроорганизмов: *Acinetobacter sp.*; *Alcaligenes carboxydus* или другие виды *Alcaligenes sp.*; *Arthrobacter sp.*; *Azomonas sp.*; *Azotobacter sp.*; *Bacillus schlegelii* или другие виды *Bacillus sp.*; *Hydrogenophaga pseudoflava* или другие виды *Hydrogenophaga sp.*; *Pseudomonas carboxydohydrogena*, *Pseudomonas carboxydovorans*, *Pseudomonas compransoris*, *Pseudomonas gazotropha*, *Pseudomonas thermocarboxydovorans* или другие виды *Pseudomonas sp.*; *Rhizobium japonicum* или другие виды *Rhizobium sp.*; и *Streptomyces G26*, *Streptomyces thermoautotrophicus* или другие виды *Streptomyces sp.* В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизмы или их белковый продукт включают консорциум микроорганизмов, который содержит карбоксидотрофные микроорганизмы, такие как один или более из указанных выше карбоксидотрофных микроорганизмов. В некоторых вариантах реализации данного изобретения используется карбоксидотрофный микроорганизм, способный к хемолитоавтотрофии. В некоторых вариантах реализации данного изобретения используется карбоксидотрофный микроорганизм, способный использовать H_2 в качестве донора электронов при дыхании и/или биосинтезе.

[166] В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизмы или их белковый продукт включают облигатные и/или факультативные хемоавтотрофные микроорганизмы, такие как один или более из следующих микроорганизмов: *Acetoanaerobium sp.*; *Acetobacterium sp.*; *Acetogenium sp.*; *Achromobacter sp.*; *Acidianus sp.*; *Acinetobacter sp.*; *Actinomadura sp.*; *Aeromonas sp.*; *Alcaligenes sp.*; *Alcaliigenes 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.*; *Methanotherrix sp.*; *Micrococcus sp.*; *Nitrobacter sp.*; *Nitrobacteraceae sp.*; *Nitrococcus sp.*; *Nitrosococcus sp.*; *Nitrospina sp.*; *Nitrospira sp.*; *Nitrosolobus sp.*; *Nitrosomonas sp.*; *Nitrospira sp.*; *Nitrosovibrio sp.*; *Nitrospina sp.*; *Oleomonas sp.*; *Paracoccus sp.*; *Peptostreptococcus sp.*; *Planctomycetes 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.*; *Thermotherrix sp.*; *Thiobacillus sp.*; *Thiomicrospira sp.*; *Thioploca sp.*; *Thiosphaera sp.*; *Thiothrix sp.*; *Thiovulum sp.*; окислители серы; окислители водорода; окислители железа; ацетогены; и метаногены; консорциумы микроорганизмов, содержащие хемоавтотрофы; хемоавтотрофы, произрастающие, по меньшей мере, в одном из гидротермальных источников, геотермальных источниках, горячих источниках, холодных источниках, подземных водоносных горизонтах, соленых озерах, соляных образованиях и почвах; и экстремофилы, выбранные из одного или более термофилов, гипертермофилов, ацидофилов, галофилов и психрофилов. В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизмы или их белковый продукт включают консорциум микроорганизмов, который содержит хемоавтотрофные микроорганизмы, такие как один или более из указанных выше хемоавтотрофных микроорганизмов.

[167] В некоторых вариантах реализации данного изобретения 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

наличие химических веществ. К таким микроорганизмам относятся гипертермофилы, такие как *Pyrolobus fumarii*; термофилы, такие как *Synechococcus lividis*; мезофилы и психрофилы, такие как *Psychrobacter*, и/или экстремально 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 обезвоживанию и ангидробиотические микроорганизмы, включая ксерофилы, такие как *Artemia salina*; микробы и грибы; солеустойчивые микроорганизмы, включая галофилы, такие как *Halobacteriaceae* и *Dunaliella salina*; микроорганизмы, устойчивые к высокому рН, 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 микроорганизмы, устойчивые к токсическому воздействию металлов (металл-толерантные), такие как *Ferroplasma acidarmanus* и *Ralstonia sp.*

[168] В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизмы или их белковый продукт включают клеточную линию, выбранную из эукариотических растений, водорослей, цианобактерий, зеленых серных бактерий, зеленых несерных бактерий, пурпурных серных бактерий, пурпурных несерных бактерий, экстремофилов, дрожжей, грибов, протеобактерий, модифицированных на их основе организмов и синтетических организмов. В некоторых вариантах реализации данного изобретения используется спиролина.

[169] В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизмы или их белковый продукт включают зеленые несернистые бактерии, которые включают, но не ограничиваются ими, следующие рода: *Chloroflexus*, *Chloronema*, *Oscillochloris*, *Heliothrix*, *Herpetosiphon*, *Roseiflexus* и *Thermomicrobium*.

[170] В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизмы или их белковый продукт включают зеленые сернистые бактерии, которые включают, но не ограничиваются ими, следующие рода: *Chlorobium*, *Clathrochloris* и *Prosthecochloris*.

[171] В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизмы или их белковый продукт включают пурпурные сернистые бактерии, которые включают, но не ограничиваются ими, следующие рода: *Allochrochromatium*, *Chromatium*, *Halochromatium*, *Isochromatium*, *Marichromatium*, *Rhodovulum*, *Thermochromatium*, *Thiocapsa*, *Thiorhodococcus* и *Thiocystis*.

[172] В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизмы или их белковый продукт включают пурпурные несернистые бактерии, которые включают, но не

ограничиваются ими, следующие рода: *Phaeospirillum*, *Rhodobaca*, *Rhodobacter*, *Rhodomicrobium*, *Rhodopila*, *Rhodopseudomonas*, *Rhodothalassium*, *Rhodospirillum*, *Rhodovibrio* и *Roseospira*.

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

[174] В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизмы или их белковый продукт представляют собой водородокисляющие хемоавтотрофы, и/или карбоксидотрофы, и/или метилотрофы, и/или метанотрофы.

[175] В некоторых вариантах реализации данного изобретения 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. В некоторых вариантах реализации данного изобретения 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 реализации данного изобретения микроорганизм способен к миксотрофному росту, например, к миксотрофному росту на органическом источнике углерода и неорганическом источнике энергии (*например*, неорганическом доноре электронов).

[176] В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизмы или их белковый продукт включают одно или более из: эукариотические растения, водоросли, цианобактерии, зеленые серные бактерии, зеленые несерные бактерии, пурпурные серные бактерии, пурпурные несерные бактерии, экстремофилы, археи, дрожжи, грибы, протеобактерии, модифицированные на их основе организмы и синтетические организмы.

[177] В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизмы включают или состоят из грамположительных бактерий. В некоторых вариантах

реализации данного изобретения микроорганизмы включают или состоят из грамотрицательных бактерий.

[178] В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизмы или их белковый продукт включают встречающиеся в природе и/или генетически не модифицированные (не являющиеся ГМО) микроорганизмы, и/или непатогенные микроорганизмы, и/или выращенные в определенных условиях окружающей среды, обеспечиваемых биопроцессами, которые отсутствуют в природной окружающей среде.

[179] В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизмы или консорциумы микроорганизмов выделяют из образцов окружающей среды и обогащают желательными микроорганизмами с использованием способов, известных в области микробиологии, например, путем выращивания в присутствии целевых доноров электронов, включая, но не ограничиваясь этим, один или более из: H_2 , CO, сингаз и/или метан, и/или акцепторов электронов, включая, но не ограничиваясь ими, один или более из: O_2 , нитраты, трехвалентное железо, и/или CO_2 , и/или определенных условий окружающей среды (*напр.*, температура, pH, давление, растворенный кислород (DO), соленость, наличие различных примесей и загрязняющих веществ и т.д.).

[180] В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизмы или консорциум микроорганизмов включают пробиотические микроорганизмы. В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизмы или консорциум микроорганизмов включают «обычно рассматриваемые как безопасные» (GRAS) микроорганизмы, *например*, бактериальные и/или грибковые GRAS-микроорганизмы. В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизмы или консорциум микроорганизмов включают дрожжи, такие как, но не ограничиваясь ими, один или более из следующих видов: *Candida humilis*; *Candida milleri*; *Debaryomyces hansenii*; *Kazachstania exigua* (*Saccharomyces exiguous*); *Saccharomyces cerevisiae*; *Saccharomyces florentinus*; *Torulaspora delbrueckii*; *Trichosporon beigelli*; и/или включают грибы, такие как, но не ограничиваясь ими, один или более из следующих видов: *Aspergillus oryzae*; *Aspergillus sojae*; *Fusarium venenatum* A3/5; *Neurospora intermedia* var. *oncomensis*; *Rhizopus oligosporus*; *Rhizopus oryzae*; *Aspergillus luchuensis*; и/или включают бактерии, такие как, но не ограничиваясь ими, один или более из следующих видов: *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*.

[181] Биомасса, содержащая белок, из которой получают белковый продукт, может продуцироваться консорциумом различных видов микроорганизмов. Консорциум необязательно может содержать многоклеточные организмы. В некоторых вариантах реализации данного изобретения консорциум содержит одно или более из: водородный микроорганизм; карбоксидотроф; метанотроф; метилотроф; хемоавтотроф; фотоавтотроф; и гетеротроф.

[182] В некоторых вариантах реализации данного изобретения белковый продукт также содержит один или более витаминов, продуцируемых микроорганизмами, из которых был получен белковый продукт. В некоторых неограничивающих вариантах реализации данного изобретения микроорганизмы включают *Cupriavidus necator* (например, *Cupriavidus necator* DSM 531 или *Cupriavidus necator* DSM 541). В некоторых неограничивающих вариантах реализации данного изобретения витамин представляет собой витамин В, включая, но не ограничиваясь этим, витамин В1, В2, и/или В12. В неограничивающем примере витамин В (например, В1, В2 и/или В12) может продуцироваться *Cupriavidus necator* (например, *Cupriavidus necator* DSM 531 или *Cupriavidus necator* DSM 541).

Культуры микроорганизмов

[183] 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 реализации данного изобретения микроорганизм можно выращивать в условиях автотрофного культивирования, в условиях гетеротрофного культивирования или в условиях сочетания автотрофного и гетеротрофного культивирования. Гетеротрофная культура может содержать подходящий источник углерода и энергии, такой как один или более сахаров (например, глюкозу, фруктозу и т.д.). Автотрофная культура может содержать химические вещества С1, такие как окись углерода, двуокись углерода, метан, метанол, формиат и/или муравьиную кислоту и/или смеси, содержащие химические вещества С1, включая, но не ограничиваясь этим, различные композиции синтез-газа или различные композиции генераторного газа, например, полученные из низкоценных источников углерода и энергии, таких как, но не ограничиваясь этим, лигноцеллюлозные энергетические

культуры, пожнивные остатки, багасса, опилки, лесохозяйственные отходы или пищевые продукты, путем газификации, частичного окисления, пиролиза или парового риформинга указанных низкоценных источников углерода, которые могут быть использованы водородным микроорганизмом или микроорганизмом, окисляющим водород, или микроорганизмом, окисляющим монооксид углерода, в качестве источника углерода и источника энергии. Подходящие способы культивирования микроорганизмов и получения биомассы для использования в данных способах описаны, *например*, в заявках РСТ № РСТ/US2010/001402, РСТ/US2011/034218, РСТ/US2013/032362, РСТ/US2014/029916, РСТ/US2017/023110, РСТ/US2018/016779, и патенте США № 9157058, каждый из которых включен в данный документ в полном объеме посредством ссылки. В некоторых вариантах реализации данного изобретения организм может быть выращен путем фотосинтеза в биореакторе, в системе гидропоники, в теплице или на возделанном поле, или может быть собран из отходов или природных источников.

[184] 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 реализации данного изобретения можно использовать крупномасштабное производство в биореакторе для получения больших количеств желаемой молекулы и/или биомассы.

[185] В некоторых вариантах реализации данного изобретения сосуды биореактора используются для удержания, изоляции и/или защиты культуральной среды. К сосудам для культивирования относятся те, которые известны специалистам в области крупномасштабного культивирования микроорганизмов. Такие сосуды для культивирования включают, но не ограничиваются ими, одно или более из следующего: эрлифтные реакторы; биологические скрубберные колонны; барботажные колонны; реакторы с механическим перемешиванием; реакторы с механическим перемешиванием непрерывного действия; реактор с противоточным смешиванием, реакторы с восходящим потоком и реакторы с расширенным слоем; дигесторы и, в частности, системы для гидролиза, например такие, которые известны в области биоремедиации; фильтры, включая, но не ограничиваясь этим, капельные фильтры, вращающиеся биологические контакторные фильтры, вращающиеся диски, почвенные фильтры; реакторы с псевдооживленным слоем; газлифтные ферментеры; реакторы с иммобилизованными клетками; петлевые реакторы; мембранные биопленочные реакторы; смесители с воздушным перемешиванием; ферментёры со слоем носителя; реакторы идеального вытеснения; статические смесители; реакторы с орошаемым слоем; и/или биореакторы с вертикально вращающимся валом.

[186] Культивирование микроорганизмов, направленное на коммерческое производство биомассы и/или органического соединения, *например*, белкового продукта, как описано в данном документе, в частности белка одноклеточных организмов, лизата клеток, экстракта клеток, белок-содержащего экстракта, изолята белка, гидролизата белка, 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) можно проводить в биореакторах в больших масштабах (*например*, биореакторе объемом 500 л, 1000 л, 5000 л, 10000 л, 50000 л, 100000 л, 1000000 л и более).

[187] В некоторых вариантах реализации данного изобретения хемоавтотрофные, 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.

[188] В некоторых вариантах реализации данного изобретения биореактор, содержащий микроорганизмы, сконструирован из непрозрачных материалов, которые удерживают культуру в почти темноте 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 пластмассы, могут быть разработаны для больших рабочих объемов. В некоторых вариантах реализации данного изобретения используются ферментеры, изготовленные из стали или других металлических сплавов, объемом 50000 литров и более. В некоторых вариантах реализации данного изобретения используются биореакторы, способные выдерживать положительное давление в свободном пространстве выше атмосферного. В некоторых вариантах реализации данного изобретения используются яйцевидные или цилиндрические дигесторы или биореакторы с вертикальным валом объемом 3 000 000 литров и более. В некоторых вариантах реализации данного изобретения биореактор, содержащий микроорганизм, не позволяет свету проникать в часть, большую часть или весь содержащийся в нем объем жидкости. В некоторых неограничивающих вариантах реализации данного изобретения микроорганизм, используемый на этапе фиксации CO_2 , не является фотосинтезирующим. В некоторых неограничивающих вариантах реализации данного изобретения конструкция биореактора не удерживает культуру тонкими слоями или не имеет прозрачных стенок, чтобы свет был доступен для всех частей, как это обычно необходимо при фотосинтезе. В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизм культивируют без значительного или какого-либо воздействия света. В некоторых таких вариантах реализации данного изобретения чистое

потребление CO₂ по-прежнему происходит в отсутствие света из-за хемоавтотрофного метаболизма и условий. В некоторых вариантах реализации данного изобретения преобразование электричества в искусственное освещение не требуется в биологической системе для улавливания и преобразования CO₂.

[189] В некоторых вариантах реализации данного изобретения отсутствие зависимости от света облегчает непрерывные операции по улавливанию CO₂ днем и ночью, круглый год, при любых погодных условиях, без необходимости в каком-либо искусственном освещении.

[190] В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизмы выращивают и поддерживают в среде, содержащей газообразный источник углерода, такой как синтез-газ, генераторный газ или газовые смеси H₂ и CO₂, но не ограничиваясь ими, в отсутствие света; при этом такое выращивание известно как выращивание в хемоавтотрофных условиях.

[191] В некоторых вариантах реализации данного изобретения сингаз, например, полученный при газификации органического вещества, используется микроорганизмами для хемоавтотрофного роста. Органическое вещество может быть, например, из сельскохозяйственного источника (*например*, кукурузной соломы, багасса).

[192] В некоторых вариантах реализации данного изобретения пригодный для применения в пищевой промышленности CO₂ и/или воздух, проходящий через устройство прямого улавливания воздуха, утилизируется микроорганизмами для хемоавтотрофного роста. Неограничивающие примеры прямого улавливания воздуха можно найти в публикации США № 2017/0106330 и Keith, D., et al. (2018) *Joule* 2(8):1573-1594, которые включены в данный документ в полном объеме посредством ссылки. В некоторых вариантах реализации данного изобретения CO₂ поступает из промышленного источника и, необязательно, может быть сконцентрирован с помощью процедуры газоразделения, что приводит к получению высокой концентрации CO₂, пригодного для применения в пищевой промышленности

[193] В некоторых вариантах реализации данного изобретения увеличение пропускной способности системы достигается за счет вертикального, а не только горизонтального, масштабирования. Это отличается от фототрофных подходов, использующих водоросли, цианобактерии или высшие растения для улавливания CO₂. Хотя для фотосинтетических систем были предложены различные схемы вертикального производства, 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 затратам и множеству негативных

воздействий на окружающую среду.

[194] Система водорослей или высших растений, выращенная с искусственным освещением, сталкивается с проблемой неэффективного использования энергии света и неэффективного преобразования электрической энергии в энергию света. В некоторых вариантах реализации данного изобретения сопоставимая культура водорослей или высших 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 некоторых вариантах реализации данного изобретения сопоставимая культура водорослей или высших растений, выращенная при искусственном освещении, потребует, по меньшей мере, в десять раз больше электроэнергии, чем система улавливания CO_2 и/или производства биомассы, описанная в данном документе, с точки зрения энергии 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 некоторых вариантах реализации способов, описанных в данном документе, потребность в отводе 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 некоторых вариантах реализации данного изобретения потребность в отводе 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.

[195] В иллюстративном, но не ограничивающем варианте реализации данного изобретения биореактор, содержащий питательную среду, засевают клетками-продуцентами. Как правило, перед тем, как клетки начнут удваиваться, последует лаг-фаза. 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 в теории, считается результатом либо ограничения массопереноса, истощения питательных веществ, включая источники азота или минералов, либо повышения концентрации ингибирующих химических веществ либо чувства кворума микроорганизмами. Рост замедляется, а затем прекращается, когда культура входит в стационарную фазу. В некоторых вариантах реализации данного изобретения стационарной фазе предшествует фаза линейного роста. Для сбора клеточной массы культуру в некоторых вариантах реализации данного изобретения собирают во время логарифмической фазы и/или во время фазы линейного

роста и/или во время стационарной фазы.

[196] 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 в хемоавтотрофных условиях. В некоторых вариантах реализации данного изобретения богатую белком клеточную массу, которую используют для получения белков или гидролизатов белков, 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, микроэлементов, температуры и pH. В некоторых вариантах реализации данного изобретения богатая белком клеточная масса, которая используется для производства аминокислот, пептидов, белков, гидролизатов, экстрактов или цельноклеточных продуктов, выращивают до высокой плотности и/или выращивают с высокой производительностью в жидкой суспензии в биореакторе.

[197] Питательные среды, а также газы могут быть добавлены в биореактор партиями, либо периодически, либо в ответ на обнаруженное истощение или запрограммированное заданное значения, либо непрерывно в течение периода выращивания и/или поддержания культуры. В некоторых вариантах реализации данного изобретения биореактор при инокуляции заполняется исходной партией питательной среды и/или одним или более газами в начале культивирования, а после инокуляции дополнительные питательные среды и/или один или более газов не добавляют. В некоторых вариантах реализации данного изобретения после инокуляции периодически добавляют питательную среду и/или один или более газов. В некоторых вариантах реализации данного изобретения после инокуляции добавляют питательную среду и/или один или более газов в ответ на выявленное истощение питательных веществ и/или газа. В некоторых вариантах реализации данного изобретения питательную среду и/или один или более газов добавляют непрерывно после инокуляции.

[198] В некоторых вариантах реализации данного изобретения добавленная питательная среда не содержит органических соединений.

[199] В некоторых вариантах реализации данного изобретения небольшое количество клеток микроорганизмов (*m.e.* инокулят) добавляют к заданному объему культуральной среды; затем культура инкубируется, а клеточная масса проходит лаг-фазу, экспоненциальную фазу, фазу замедления роста и стационарную фазу роста.

[200] В системах периодического культивирования условия (*например*, концентрация

питательных веществ, рН и т. д.), при которых культивируется микроорганизм, обычно постоянно изменяются в течение всего периода роста. В некоторых неограничивающих вариантах реализации данного изобретения, чтобы избежать неустойчивых условий, присущих периодическому культивированию, и для повышения общей продуктивности системы культивирования, микроорганизмы, используемые для получения белка и/или витаминов и/или других питательных веществ выращиваются в системе непрерывного культивирования, называемой хемостатом. В таких системах культуру можно поддерживать в постоянной экспоненциальной фазе роста, подпитывая ее свежей питательной средой с постоянной скоростью [F], при одновременном поддержании постоянного объема [V] культуры. В некоторых вариантах реализации данного изобретения система непрерывного культивирования обеспечивает культивирование клеток в условиях окружающей среды, которые остаются приблизительно постоянными. В некоторых вариантах реализации данного изобретения клетки поддерживают в постоянной экспоненциальной фазе за счет использования системы хемостата. 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 некоторых вариантах реализации данного изобретения скорость роста микроорганизма изменяется путем изменения скорости разбавления. В некоторых неограничивающих вариантах реализации данного изобретения клетки выращивают в хемостате при скорости разбавления около $0,2 \text{ ч}^{-1}$.

[201] В некоторых вариантах реализации данного изобретения инокуляцию культуры в биореактор осуществляют способами, включая, но не ограничиваясь ими, перенос культуры из существующей культуры, обитающей в другом биореакторе, или инкубацию из посевного материала, выращенного в инкубаторе. В некоторых вариантах реализации данного изобретения посевной материал штамма может транспортироваться и храниться в формах, включая, но не ограничиваясь этим, порошкообразную, жидкую, замороженную или сублимированную форму, а также любую другую подходящую форму, которая может быть легко распознана специалистом в данной области техники. В некоторых неограничивающих вариантах реализации данного изобретения резервные бактериальные культуры хранятся в метаболически неактивном, лиофилизированном состоянии до тех пор, пока не потребуются перезапуск. В некоторых вариантах реализации данного изобретения, при выращивании культуры в очень большом реакторе, культуры выращивают и помещают последовательно каждый раз в более крупные сосуды среднего размера до инокуляции в полноразмерный сосуд.

[202] В некоторых вариантах реализации данного изобретения биореакторы имеют механизмы, позволяющие смешивать питательные среды, которые включают, но не ограничиваются этим, одно или более из следующего: вращающиеся мешалки, лопасти, крыльчатки или турбины; вращающиеся, раскачивающиеся или повараживающиеся сосуды; газлифты, барботаж; рециркуляцию среды со дна емкости вверх через рециркуляционный трубопровод, протекание среды через петлю и/или статические смесители. Культуральные среды можно перемешивать непрерывно или периодически.

[203] В некоторых вариантах реализации данного изобретения питательная среда, содержащая микроорганизмы, может быть удалена из биореактора частично или полностью, периодически или непрерывно, и в некоторых вариантах реализации данного изобретения может быть заменена свежей бесклеточной средой для поддержания клеточной культуры в фазе экспоненциального роста, и/или для восполнения истощенных питательных веществ в питательной среде, и/или удаления ингибирующих продуктов жизнедеятельности.

[204] Порты, которые являются стандартными для биореакторов, могут использоваться для доставки или отвода газов, жидкостей, твердых веществ, и/или суспензии, в и/или из сосуда биореактора, содержащего микроорганизма. Многие биореакторы имеют несколько портов для различных целей (*например*, порты для добавления среды, добавления газа, датчики для pH и DO (растворенного кислорода) и отбора проб), и каждый конкретный порт может использоваться для различных целей в процессе ферментации. Например, порт может использоваться для добавления питательной среды в биореактор в один момент времени, а в другой момент может использоваться для отбора проб. Предпочтительно многократное использование порта 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 актюатор, позволяющий управлять потоком пробы или осуществлять непрерывный отбор проб. В некоторых вариантах реализации данного изобретения биореакторы оснащены, по меньшей мере, одним портом, подходящим для инокуляции культуры, который может дополнительно использоваться для других целей, включая добавление среды или газа. Порты биореактора позволяют контролировать состав газа и скорость потока в культуральную среду. Например, порты можно использовать в качестве впускных отверстий для газа в биореактор, через которые прокачиваются газы.

[205] В некоторых вариантах реализации данного изобретения газы, которые можно закачивать в биореактор, включают, но не ограничиваются ими, один или более из следующих: синтетический газ, генераторный газ, газообразный водород, CO, CO₂, O₂,

воздух, смеси воздух/CO₂, природный газ, метан, аммиак, азот, инертные газы, например аргон, а также другие газы. В некоторых вариантах реализации данного изобретения CO₂, закачиваемый в систему, может поступать из источников, включая, но не ограничиваясь ими: CO₂ от газификации органического вещества; CO₂ от обжига известняка, CaCO₃, для производства негашеной извести, CaO; CO₂ от парового риформинга метана, такой как CO₂ как побочный продукт производства аммиака, метанола или водорода; CO₂ от окисления, сжигания или сжигания газа в факеле; CO₂ как побочный продукт анаэробного или аэробного брожения сахара; CO₂ как побочный продукт метанотрофного биопроцесса; геологически или геотермально произведенный или выброшенный CO₂; CO₂, удаленный из кислого газа или природного газа. В некоторых неограничивающих вариантах реализации данного изобретения CO₂ удаляют из промышленных дымовых газов или улавливают из геологического источника, который в противном случае естественным образом выбрасывался бы в атмосферу. В некоторых вариантах реализации данного изобретения источником углерода является CO₂ и/или бикарбонат и/или карбонат, растворенный в морской воде или других поверхностных или подземных водоемах. В некоторых таких вариантах реализации данного изобретения неорганический углерод может быть введен в биореактор растворенным, в виде жидкой воды, и/или в виде твердого вещества. В некоторых вариантах реализации данного изобретения источником углерода является CO₂, улавливаемый из атмосферы. В некоторых неограничивающих вариантах реализации данного изобретения CO₂ был захвачен из закрытой кабины как часть замкнутой системы жизнеобеспечения с использованием такого оборудования, как, но не ограничиваясь этим, установка для удаления CO₂ (CDRA), которая используется, например, на Международной космической станции (МКС).

[206] В некоторых неограничивающих вариантах реализации данного изобретения геологические объекты, такие как, но не ограничиваясь этим, 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.

[207] В некоторых вариантах реализации данного изобретения один или более газов в дополнение к диоксиду углерода или вместо диоксида углерода в качестве альтернативного источника углерода либо растворяются в растворе, либо подаются в культуральную среду и/или растворяются непосредственно в культуральной среде, включая, но не ограничиваясь этим, газообразные доноры электронов и/или источники углерода (например, водород и/или CO и/или метановый газ). В некоторых вариантах реализации

данного изобретения вводимые газы могут содержать другие доноры электронов и/или акцепторы электронов, и/или источники углерода, и/или минеральные питательные вещества, такие как, но не ограничиваясь этим, другие компоненты газа и примеси синтез-газа (*например*, углеводороды); аммиак; сульфид водорода; и/или другие кислые газы; и/или O_2 ; и/или минерал, содержащий твердые частицы и золу.

[208] В некоторых вариантах реализации данного изобретения в культуральной питательной среде растворяют один или более газов, включая, но не ограничиваясь этим, газообразные доноры электронов, такие как, но не ограничиваясь этим, один или более из следующих: водород, монооксид углерода, метан, сероводород или другие серосодержащие газы; газообразные источники углерода, такие как, но не ограничиваясь этим, один или более из следующих: CO_2 , CO , CH_4 ; и акцепторы электронов, такие как, но не ограничиваясь ими, кислород, либо в воздухе (*например*, 20,9% кислорода), либо в виде чистого O_2 , либо в виде газа, обогащенного O_2 . В некоторых вариантах реализации данного изобретения растворение этих и других газов в растворе достигается с использованием системы компрессоров, расходомеров и проточных клапанов, известных специалистам в области технологии ферментации, которые подают в одну или более из следующих широко используемых систем для диспергирования газа в раствор: барботажное оборудование; диффузоры, включая, но не ограничиваясь этим, куполообразную, трубчатую, дисковую или кольцевую геометрию; крупнопузырьковые и мелкопузырьковые аэраторы; оборудование Вентури. В некоторых вариантах реализации данного изобретения поверхностная аэрация и/или массоперенос газа можно также осуществлять с использованием лопастных аэраторов и т.п. В некоторых вариантах реализации данного изобретения растворение газа усиливается за счет механического перемешивания с помощью импеллера или турбины, а также с помощью гидравлических сдвигающих устройств для уменьшения размера пузырьков. После прохождения через реакторную систему, содержащую микроорганизмы, которые поглощают газы, в некоторых вариантах реализации данного изобретения 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 некоторых вариантах реализации данного изобретения, использующих H_2 в качестве донора электронов, H_2 можно подавать в сосуд для культивирования либо барботируя его через культуральную среду, либо путем диффузии через водородопроницаемую и водонепроницаемую мембрану, известную в данной области техники, которая взаимодействует с жидкой культуральной средой.

[209] В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизмы растут и

размножаются на H_2 и CO_2 и других растворенных питательных веществах в микроаэробных условиях. В некоторых вариантах реализации данного изобретения химическое вещество С1, такое как, но не ограничиваясь этим, окись углерода, метан, метанол, формиат или муравьиная кислота и/или смеси, содержащие химические вещества С1, включая, но не ограничиваясь этим, различные композиции синтез-газа, полученные из различного сырья, подвергнутого газификации, пиролизу или паровому риформингу с фиксированным углеродом, биохимически преобразуются в органические химические вещества с более длинной цепью (*m.e.*, молекулы С2 или молекулы с более длинной цепью и, в некоторых вариантах реализации данного изобретения, молекулы С5 или молекулы с более длинной углеродной цепью) при одном или более из следующих условий: при аэробном, микроаэробном, бескислородном, анаэробном и/или факультативном условиях.

[210] Контролируемое количество кислорода также может поддерживаться в культуральной среде в некоторых вариантах реализации данного изобретения, и в некоторых вариантах реализации данного изобретения кислород будет активно растворяться в растворе, подаваемом в культуральную среду и/или растворяться непосредственно в культуральной среде. В некоторых вариантах реализации данного изобретения при аэробных или микроаэробных условиях, которые требуют нагнетания воздуха или кислорода в культуральную среду для поддержания заданных уровней DO, в среду можно вводить кислородные пузырьки оптимального диаметра для смешивания и переноса кислорода.

[211] В некоторых вариантах реализации данного изобретения культуру поддерживают при низком парциальном давлении O_2 для стимуляции высокой экспрессии FНb. В некоторых вариантах реализации данного изобретения применяются микроаэробные условия культивирования. Например, растворенный кислород может присутствовать на уровне ниже, чем в воздухе или насыщенных воздухом растворах, например, ниже предела обнаружения стандартных датчиков растворенного кислорода, *например*, менее 1 ч./млн.

[212] В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизмы преобразуют топливный газ, включая, но не ограничиваясь ими, синтез-газ, генераторный газ, CO, CO_2 , H_2 , природный газ, метан и их смеси. В некоторых вариантах реализации данного изобретения содержание тепла в топливном газе составляет, по меньшей мере, 100 БТЕ на стандартный кубический фут (ст. куб. фут). В некоторых вариантах реализации данного изобретения биореактор, используемый 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 некоторых вариантах реализации данного изобретения перемешивание усиливается за счет турбулентности, создаваемой пузырьками газа, и/или барботированием, и/или тампонирования газа через жидкую среду. В некоторых вариантах реализации данного изобретения биореактор имеет газоотводные порты для выпуска газа и сброса давления. В некоторых вариантах реализации данного изобретения впускные и выпускные порты для газа предпочтительно оснащены обратными клапанами для предотвращения обратного потока газа.

[214] В некоторых вариантах реализации данного изобретения, когда хемосинтетические реакции происходят в биореакторе, один или более типов доноров электронов и один или более типов акцепторов электронов закачиваются или иным образом добавляются либо в виде разовой добавки, либо периодически, либо непрерывно, в питательную среду, содержащую хемоавтотрофные организмы, в реакционном сосуде. Реакция хемосинтеза, обусловленная переносом электронов от донора электронов к акцептору электронов при клеточном дыхании, фиксирует неорганический углекислый газ и/или другие растворенные карбонаты и/или другие оксиды углерода в органические соединения и биомассу.

[215] В некоторых вариантах реализации данного изобретения используется питательная среда для роста и получения культуры, содержащая водный раствор, который содержит подходящие минералы, соли, витамины, кофакторы, буферы и другие компоненты, необходимые для роста микроорганизма, 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 некоторых вариантах реализации данного изобретения химические вещества, используемые для поддержания и роста культур микроорганизмов, известные в данной области техники, включаются в питательную среду. В некоторых вариантах реализации данного изобретения эти химические вещества могут включать, но не ограничиваться этим, одно или несколько 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*, динатрийфосфат (Na_2HPO_4), фосфат калия (KH_2PO_4), фосфорная кислота (H_3PO_4), дитиофосфат калия ($\text{K}_3\text{PS}_2\text{O}_2$), ортофосфат калия (K_3PO_4), дикалийфосфат (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 микроэлементы (*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 марганца ($\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 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), борная кислота (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 некоторых вариантах реализации данного изобретения можно использовать питательную среду с минеральными солями (MSM), разработанную Schlegel et al. [“Thermophilic bacteria”, Jakob Kristjansson, Chapter 5, Section III, CRC Press, (1992)].

[217] В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизмы, описанные в данном документе можно культивировать в среде любого типа (обогащенной или минимальной), включая среду для ферментации и любую другую композицию среды. Как будет понятно специалисту в данной области техники, обычная оптимизация позволит использовать различные типы питательных сред. Выбранная среда может быть дополнена различными дополнительными компонентами. Некоторые неограничивающие примеры дополнительных компонентов включают глюкозу, антибиотики, изопропил-b-d-1-тиогалактопиранозид (IPTG) для индукции генов, и добавку микроэлементов Американской коллекции типовых культур (ATCC). Точно так же другие аспекты питательной среды и условий роста микроорганизмов, описанных в данном документе, могут быть оптимизированы с помощью стандартных экспериментов. Например, pH и температура являются неограничивающими примерами факторов, которые можно оптимизировать. В некоторых вариантах реализации данного изобретения такие факторы, как выбор питательной среды, добавки к среде и температура, могут влиять на уровни продукции желаемой молекулы. В некоторых вариантах реализации данного изобретения могут быть оптимизированы концентрация и количество дополнительного компонента. В некоторых вариантах реализации данного изобретения оптимизирована частота добавления в среду одного или более дополнительных компонентов и продолжительность времени, в течение которого среда культивируется до сбора желаемой молекулы.

[218] В некоторых вариантах реализации данного изобретения концентрации

питательных химических веществ (*например*, доноров электронов, акцепторов электронов, источников углерода и/или различных минеральных питательных веществ), поддерживаются в биореакторе близко к или на соответствующих оптимальных уровнях для оптимального поглощения углерода, и/или фиксации, и/или преобразования, и/или производства биомассы и/или органических соединений, которые варьируются в зависимости от используемого микроорганизма, но могут быть определены стандартным способ и/или оптимизированы специалистом в области культивирования микроорганизмов.

[219] В некоторых вариантах реализации данного изобретения в биореакторе отслеживают или контролируют один или более из следующих параметров: уровни отходов жизнедеятельности; pH; температура; соленость; растворенный кислород; растворенный углекислый газ; расход жидкости; скорость перемешивания; давление газа. В некоторых вариантах реализации данного изобретения рабочие параметры, влияющие на хемоавтотрофный рост, отслеживаются с помощью датчиков (*например*, датчика растворенного кислорода или датчика окисления-восстановления для измерения концентраций доноров/акцепторов электронов) и/или контролируются либо вручную, либо автоматически на основе обратной связи от датчиков через использование оборудования, включая, но не ограничиваясь этим, приводные клапаны, насосы и мешалки. В некоторых вариантах реализации данного изобретения температура поступающей питательной среды, а также поступающих газов регулируется такими системами, как, но не ограничиваясь ими, охладители, нагреватели и/или теплообменники.

[220] В некоторых вариантах реализации данного изобретения микробная культура и биореакция поддерживаются в устойчивом состоянии за счет непрерывного притока и удаления питательной среды и/или биомассы, при котором клеточная популяция и параметры окружающей среды (*например*, плотность клеток, pH, DO, концентрации химических веществ) поддерживаются на постоянном уровне в течении времени. В некоторых вариантах реализации данного изобретения постоянный уровень является оптимальным уровнем для переработки сырья и/или получения целевых органических соединений. В некоторых вариантах реализации данного изобретения плотность клеток можно отслеживать путем прямого отбора проб, корреляции оптической плотности с плотностью клеток, и/или с помощью анализа размера частиц. В некоторых вариантах реализации данного изобретения гидравлическое время удерживания и время удерживания биомассы могут быть разделены, чтобы обеспечить независимый контроль как химического состава питательной среды, так и плотности клеток. В некоторых

вариантах реализации данного изобретения скорость разбавления можно поддерживать достаточно высокой, чтобы время гидравлического удерживания было относительно низким по сравнению со временем удерживания биомассы, что приводит к среде с высокой степенью пополнения для роста клеток и/или преобразования исходного сырья и/или производства органических соединений. В некоторых вариантах реализации данного изобретения скорость разбавления устанавливается в соответствии с оптимальным технико-экономическим соотношением между культуральной средой и пополнением питательных веществ и/или удалением отходов жизнедеятельности и увеличением затрат на откачивание, увеличением вводимых ресурсов и других требований, которые возрастают с увеличением скорости разбавления.

[221] В некоторых вариантах реализации данного изобретения рН культуры микроорганизмов контролируется. В некоторых вариантах реализации данного изобретения рН регулируется в пределах оптимального диапазона для поддержания микроорганизмов и/или роста и/или переработки сырья и/или производства органических соединений и/или выживания микроорганизмов. Чтобы решить проблему снижения рН, в некоторых вариантах реализации данного изобретения этап нейтрализации можно проводить непосредственно в среде биореактора или перед рециркуляцией среды обратно в сосуд для культивирования через контур рециркуляции. Нейтрализацию кислоты в среде в некоторых вариантах реализации данного изобретения можно выполнить путем добавления оснований, включая, но не ограничиваясь ими, одно или более из следующих веществ: известняк, известь, гидроксид натрия, аммиак, гидроксид аммония, гидроксид калия, оксид магния, оксид железа, щелочная зола.

[222] В некоторых вариантах реализации данного изобретения водная суспензия хемоавтотрофных микроорганизмов превращает один или более доноров электронов и CO_2 в протоплазму. В некоторых вариантах реализации данного изобретения водная суспензия водородокисляющих микроорганизмов может использоваться для превращения водорода и диоксида углерода в протоплазму микроорганизмов. В некоторых вариантах реализации данного изобретения водная суспензия микроорганизмов, окисляющих монооксид углерода, может быть использована для превращения монооксида углерода и водорода и/или воды в протоплазму. В некоторых вариантах реализации данного изобретения для превращения метана в протоплазму можно использовать водную суспензию метанокисляющих микроорганизмов. В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизм в суспензии представляет собой бактерию или архею. В некоторых неограничивающих вариантах реализации данного изобретения водная суспензия или биопленка H_2 -окисляющих хемоавтотрофных микроорганизмов

преобразует H_2 и CO_2 вместе с некоторыми другими растворенными минеральными питательными веществами в биохимические вещества и протоплазму. В некоторых вариантах реализации данного изобретения другие растворенные минеральные питательные вещества включают, но не ограничиваются ими, источник азота, источник фосфора и источник калия. В некоторых вариантах реализации данного изобретения полученная протоплазма имеет пищевую ценность для человека и/или других животных и/или других гетеротрофов. В некоторых вариантах реализации данного изобретения из протоплазмы и/или внеклеточного пространства можно экстрагировать определенные биохимические вещества, которые имеют питательную ценность и/или ценность в различных применениях органической химии или ценность в качестве топлива. В некоторых вариантах реализации данного изобретения внутриклеточная энергия, необходимая для продуцирования протоплазмы, получается в результате окисления донора электронов акцептором электронов. В некоторых неограничивающих вариантах реализации данного изобретения донор электронов включает, но не ограничивается ими, один или более из следующих элементов: H_2 ; CO ; CH_4 . В некоторых неограничивающих вариантах реализации данного изобретения акцептор электронов включает, но не ограничивается ими, O_2 и/или CO_2 . В некоторых неограничивающих вариантах реализации данного изобретения продукт реакции генерации энергии или дыхания включает, но не ограничивается ими, воду. В некоторых вариантах реализации данного изобретения внутриклеточная энергия, полученная в результате дыхания, используемая для запуска этого синтеза биохимических веществ и протоплазмы из CO_2 , хранится и переносится в биохимических молекулах, включая, но не ограничиваясь этим, АТФ. Для водородокисляющих микроорганизмов, используемых в некоторых вариантах реализации данного изобретения, акцептором электронов является O_2 , а продуктом дыхания является вода.

[223] В некоторых вариантах реализации данного изобретения продукция белка и/или распределение продуцируемых аминокислотных молекул оптимизируется посредством одного или более из следующего: путем контроля условий биореактора, контроля уровней питательных веществ и/или генетической модификации клеток. В некоторых вариантах реализации данного изобретения 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 азота, кислорода, фосфора, серы, следовых микроэлементов, таких как неорганические ионы, и, если они присутствуют, каких-либо регуляторных молекул, которые обычно не считаются питательными

веществами или источником энергии). В некоторых вариантах реализации данного изобретения содержание растворенного кислорода (DO) можно оптимизировать, поддерживая питательную среду 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 описанными в данном документе микроорганизмами может происходить во время логарифмической фазы или после нее во время стационарной фазы, когда удвоение клеток останавливается, при условии, что имеется достаточное количество углерода и энергии и другие источники питательных веществ.

[224] В некоторых вариантах реализации данного изобретения питательная среда для микроорганизма, описанного в данном документе, содержит белок и/или источник питательных веществ из другого микроорганизма (*например*, лизат клеток, гидролизат белка, пептиды, олигопептиды, и/или аминокислоты, и/или органические молекулы и/или другие питательные вещества из другого микроорганизма). В некоторых вариантах реализации данного изобретения микроорганизм в питательной среде представляет собой GRAS-микроорганизм. В одном варианте реализации данного изобретения питательная среда для молочнокислых бактерий, таких как, но не ограничиваясь ими, бактерии *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus* или *Pediococcus* (например, молочнокислые GRAS-бактерии, такие как GRAS-бактерии *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus* или *Pediococcus*), содержит лизат клеток, гидролизат белка, пептиды, олигопептиды и/или аминокислоты, и/или органические молекулы и/или другие питательные вещества из другого микроорганизма, такого как любой из микроорганизмов, описанных в данном документе, включая, но не ограничиваясь им, микроорганизм *Cupriavidus*, такой как, но не ограничиваясь им, *Cupriavidus necator*, например, *Cupriavidus necator* DSM 531 или DSM 541. В другом варианте реализации данного изобретения среда для выращивания грибкового микроорганизма, такого как грибковый микроорганизм *Fusarium* или *Rhizopus* (например, грибковый GRAS-микроорганизм, такой как грибковый GRAS микроорганизм *Fusarium* или *Rhizopus*), такого как любой из микроорганизмов, описанных в данном документе, включая, но не ограничиваясь ими, *Fusarium venenatum*, *Rhizopus oligosporus* или *Rhizopus oryzae*, содержит лизат клеток, гидролизат белка, пептиды, олигопептиды, и/или аминокислоты, и/или органические молекулы и/или другие питательные вещества из другого микроорганизма, такого как, но не ограничиваясь им, микроорганизм *Cupriavidus*, такой как, но не ограничиваясь ими,

Cupriavidus necator, например, *Cupriavidus necator* DSM 531 или DSM 541.

[225] В некоторых вариантах реализации данного изобретения грибковый микроорганизм, способный лизировать бактериальные клетки и/или гидролизующий бактериальный белок культивируют в присутствии таких бактериальных клеток. Например, бактериальная биомасса может быть выделена и необязательно обезвожена, а затем грибковые микроорганизмы могут быть инокулированы на бактериальную биомассу, или грибковые микроорганизмы могут быть культивированы в питательной среде, как описано в данном документе, в присутствии бактериальной биомассы. В некоторых неограничивающих вариантах реализации данного изобретения грибковые микроорганизмы представляют собой микроорганизмы *Fusarium* или *Rhizopus*, такие как, но не ограничиваясь ими, *Fusarium venenatum*, *Rhizopus oligosporus* или *Rhizopus oryzae*.

[226] Конкретные примеры биореакторов, условия культивирования, гетеротрофные и хемотрофные условия роста, поддержание культуры и аминокислоты, или белки, или другие питательные вещества, или способы производства цельноклеточных продуктов, описанных в данном документе, могут быть объединены любым подходящим образом для повышения эффективности роста микроорганизмов и получения аминокислоты, или белка, или другого питательного вещества, или цельных клеток.

Доноры и акцепторы электронов

[227] В некоторых неограничивающих вариантах реализации данного изобретения микроорганизмы, описанные в данном документе, выращивают в хемоавтотрофных условиях. Например, при росте микроорганизмов может использоваться биосинтетическое восстановление CO₂ с использованием акцептора электронов O₂ и/или донора электронов H₂. В некоторых вариантах реализации данного изобретения O₂ и H₂ образуются в результате электролиза воды. В некоторых неограничивающих вариантах реализации данного изобретения часть O₂, образующегося при электролизе воды, и весь H₂ подаются в водную суспензию микроорганизмов, как описано в данном документе. В некоторых неограничивающих вариантах реализации данного изобретения молярное соотношение H₂, подаваемого в водную суспензию микроорганизмов, к молям O₂ составляет более 2:1. В некоторых неограничивающих вариантах реализации данного изобретения, в которых акцептор электронов O₂ и донор электронов H₂ образуются в результате электролиза воды, остается избыток O₂, после того, как все метаболические потребности микроорганизмов в H₂ и O₂ были удовлетворены. В некоторых таких вариантах реализации данного изобретения избыток O₂ поставляется 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 некоторых вариантах реализации данного изобретения, в которых в качестве донора электронов используется молекулярный водород, может образовываться побочный химический продукт при получении молекулярного водорода с использованием возобновляемых источников энергии и/или без выбросов CO_2 . В некоторых вариантах реализации данного изобретения водородно-кислородная реакция, используемая при дыхании, ферментативно связана с окислительным фосфорилированием. В некоторых вариантах реализации данного изобретения АТФ и/или другие образующиеся внутриклеточные энергоносители используются в анаболическом синтезе аминокислот и/или белков. В некоторых вариантах реализации данного изобретения кислород, получаемый при расщеплении воды в количестве сверх того, что необходимо 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 этапов, известных в данной области техники, и науки о коммерческом производстве газообразного кислорода.

[229] В некоторых вариантах реализации данного изобретения применяются водородокисляющие, и/или CO -окисляющие, и/или CH_4 -окисляющие микроорганизмы, которые используют больше электроотрицательных акцепторов электронов, чем CO_2 , в энергосберегающих реакциях для производства АТФ (*например*, при дыхании), например, но не ограничиваясь этим, используют больше O_2 . Например, гидрогенотрофные водородные или водородокисляющие микробы, которые связывают водород-кислородную реакцию, $2 \text{H}_2 + \text{O}_2 \rightarrow 2 \text{H}_2\text{O}$, с производством АТФ, могут производить больше АТФ на единицу H_2 и/или другого донора электронов, потребляемых во время дыхания, чем ацетогены или метаногены, которые используют CO_2 в качестве акцептора электронов при дыхании. Например, водородокисляющие микроорганизмы могут производить, по меньшей мере, два АТФ на каждый H_2 , 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>), которая включена в данный документ в полном объеме посредством ссылки], что в восемь раз больше количества АТФ, вырабатываемого при потреблении H_2 при дыхании, чем то, что может быть произведено микроорганизмами, которые подвергаются метаногенезу или ацетогенезу, используя H_2 в качестве донора электронов и CO_2 в качестве акцептора электронов при дыхании. По этой причине использование микроорганизмов, которые могут использовать более

электроотрицательные акцепторы электронов при дыхании и производстве АТФ, таких как, но не ограничиваясь ими, водородокисляющие микробы, для анаболического биосинтеза, такого как, но не ограничиваясь этим, биосинтез аминокислот, белков или жирных кислот из синтез-газа или H_2 , может быть более эффективным, чем использование ацетогенов или метаногенов, таких как те, которые в настоящее время используются в биологических технологиях ГТС для производства короткоцепочечных кислот или спиртов (*например*, уксусной кислоты или этанола). В некоторых вариантах реализации данного изобретения водородно-кислородная реакция, используемая при дыхании, ферментативно связана с окислительным фосфорилированием. В некоторых вариантах реализации данного изобретения аэробное дыхание используется клетками микроорганизмов, описанных в данном документе, для производства АТФ. В некоторых вариантах реализации данного изобретения АТФ и/или другие образующиеся внутриклеточные энергоносители используются в анаболическом биосинтезе аминокислот и/или белков. В некоторых вариантах реализации данного изобретения используются водородокисляющий и/или карбоксидотрофный и/или метанотрофный и/или гетеротрофный микроорганизм или композиции, содержащие эти микроорганизмы, при этом микроорганизм экспрессирует один или более ферментов, которые обеспечивают биосинтез полезных углеродсодержащих продуктов, представляющих интерес, включая, но не ограничиваясь этим, химические вещества, мономеры, полимеры, белки, полисахариды, витамины, нутрицевтики, антибиотики или фармацевтические продукты или их промежуточные продукты, из углеродсодержащего газового сырья, включая, но не ограничиваясь этим, сингаз или генераторный газ, или природный газ, или биогаз, или CO_2 в сочетании с возобновляемыми H_2 или CO или метан-содержащими газами. В некоторых вариантах реализации данного изобретения указанные представляющие интерес продукты на основе углерода могут быть биосинтезированы гетеротрофно из органического полиуглеродного сырья, такого как, но не ограничиваясь этим, глюкоза, фруктоза и другие сахара. В некоторых неограничивающих вариантах реализации данного изобретения используют микроорганизм или композицию, содержащую микроорганизм, при этом микроорганизму требуется менее $4H_2$ или НАДН для производства одного АТФ посредством дыхания. В других неограничивающих вариантах реализации данного изобретения используется микроорганизм, который продуцирует более одного АТФ на каждый H_2 или НАДН, потребляемый при дыхании. В других неограничивающих вариантах реализации данного изобретения используется микроорганизм, который продуцирует, по меньшей мере, два АТФ на каждый H_2 или НАДН, потребляемый при дыхании, или, по меньшей мере, 2,5 АТФ на каждый H_2 или НАДН, потребляемый при

дыхании.

[230] Дополнительный признак некоторых неограничивающих вариантов реализации данного изобретения касается источника, производства или рециркуляции доноров электронов, используемых хемоавтотрофными микроорганизмами для связывания диоксида углерода и/или другого исходного сырья C1 в органические соединения. Доноры электронов, используемые для захвата диоксида углерода и фиксации углерода, могут быть получены или переработаны в определенных вариантах реализации данного изобретения электрохимическим или термохимическим способом с использованием энергии ряда различных возобновляемых источников энергии и/или технологий с низким уровнем выбросов углерода, включая, но не ограничиваясь этим: фотоэлектрическую энергию, солнечную тепловую энергию, энергию ветра, гидроэлектроэнергию, ядерную энергию, геотермальную энергию, усиленную геотермальную энергию, тепловую энергию океана, энергию волн океана, энергию приливов. Многие восстановленные неорганические химические вещества, на которых могут расти хемоавтотрофы (*например*, H₂, CO, H₂S, двухвалентное железо, аммоний, Mn²⁺) можно легко получить с помощью электрохимических и/или термохимических процессов, хорошо известных в данной области техники и науке химической инженерии, которые могут приводиться в действие различными видами углекислого газа без выбросов или с низким уровнем выбросов углерода и/или возобновляемыми источниками энергии, включая, но не ограничиваясь этим, фотоэлектрическую энергию, солнечную тепловую энергию, энергию ветра, гидроэлектроэнергию, ядерную энергию, геотермальную энергию, усиленную геотермальную энергию, тепловую энергию океана, энергию волн океана, 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, электролизеры коммерческого и промышленного класса уже обеспечивают эффективность использования электроэнергии до 73%, а исследования новых материалов и конфигураций электролизеров продемонстрировали, что возможная эффективность достигает 96%. В некоторых вариантах реализации данного изобретения используется коммерчески доступная технология электролиза с эффективностью использования электрической энергии более 70% для получения донора электронов H₂ и/или акцептора электронов O₂. В некоторых вариантах реализации данного изобретения используются технологии электролиза с энергоэффективностью 73% или более, и/или энергоэффективностью до 96% и более.

[232] В некоторых вариантах реализации данного изобретения, в которых в качестве донора электронов используется молекулярный водород, H_2 получают способами, хорошо известными в данной области техники и науке в области химической и технологической инженерии, включая, но не ограничиваясь этим, один или более из следующих способов: электролиз воды, включая, но не ограничиваясь этим, подходы с использованием протонообменных мембран (PEM), жидких электролитов, таких как KOH, щелочного электролиза, электролиза с твердым полимерным электролитом, электролиза с применением высокого давления, высокотемпературного электролиза пара (HTES); и/или термохимическое расщепление воды с помощью способов, включая, но не ограничиваясь этим, 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 электролиз сероводорода; и/или термохимическое расщепление сероводорода; и/или другие электрохимические или термохимические процессы, которые, как известно, производят водород с низким или нулевым выбросом двуокиси углерода, включая, но не ограничиваясь этим, улавливание и хранение углерода (CCS), обеспечивающих конверсию метана. В некоторых вариантах реализации данного изобретения подход к получению H_2 включает, но не ограничивается этим, электролиз с использованием возобновляемой электрической энергии и/или электроэнергии из источника с низким уровнем выбросов парниковых газов (ПГ). В некоторых вариантах реализации данного изобретения электролиз происходит под действием одного или более из следующих источников: солнечная энергия, включая, но не ограничиваясь этим, фотоэлектрическую энергию, солнечную тепловую энергию, энергию ветра, гидроэлектроэнергию, ядерную энергию, геотермальную энергию, усиленную геотермальную энергию, тепловую энергию океана, энергию волн океана, энергию приливов.

[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 энергии ветра и спросом на электроэнергию проявляется в примерах из разных стран мира, например, в Шотландии, где ветряным электростанциям платят за отключение турбин из-за избыточной поставки [<http://www.mnn.com/earth-matters/energy/blogs/blown-away-wind-turbines-generate-enough-energy-to-power-every-home-in>], and in parts of Texas where electricity has been provided for free at night when wind power is high and grid demand is low [<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 за счет использования энергии ветра, вырабатываемой в непиковые часы потребления, для производства сырья H_2 для процесса в некоторых вариантах реализации данного изобретения.

[234] В настоящее время водород все чаще рассматривается как возможная система хранения энергии в так называемом подходе «энергия в газ». Присущая возобновляемым источникам энергии нестабильность (особенно солнечной и энергии ветра) и избыточная электроэнергия, получаемая из энергосистемы (внепиковая энергия) могут быть смягчены за счет производства водорода путем электролиза воды. Согласно большинству современных схем, произведенный газообразный водород может быть затем преобразован обратно в электричество с помощью топливных элементов и/или газовых турбин в периоды пикового потребления. Или, альтернативно, H_2 может подаваться в газовую сеть или превращаться в метан посредством метанирования. Кроме того, водород может быть использован в качестве сырья в химической, нефтехимической, металлургической и пищевой промышленности. В некоторых вариантах реализации предложены новые возможности в рамках схемы 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 некоторых вариантах реализации данного изобретения водород, получаемый с использованием избыточной электроэнергии, получаемой из энергосистемы, и/или внепиковой энергии, используется в качестве донора электронов для одного или более метаболических путей, происходящих в микроорганизмах, использующих водород. В некоторых вариантах реализации данного изобретения водород и/или кислород, необходимые для микробного биосинтеза водородокисляющими бактериями и/или аэробными бактериями, образуются в результате электролиза воды с использованием возобновляемой энергии и, в частности, внепиковой электроэнергии, *т.е.* электроэнергии, доступной, когда предложение энергии превышает потребление, и которая в текущей ситуации часто тратится впустую.

[235] В некоторых вариантах реализации данного изобретения локальное хранение газов H_2 и CO_2 позволяет отводить энергию от энергосистемы только в периоды, когда возобновляемая генерация превышает потребление электроэнергии. В некоторых вариантах реализации данного изобретения энергия может поступать в энергосистемы в обычном режиме в периоды повышенного потребления. В некоторых вариантах реализации данного изобретения процесс не нарушает подачу возобновляемой энергии, а, скорее, обеспечивает более полное использование возобновляемых генерирующих мощностей, таких как, но не ограничиваясь или, ветровая и солнечная энергия. Некоторые

варианты реализации данного изобретения позволяют продолжать возобновляемую работу и выработку электроэнергии даже в периоды, когда выработка электроэнергии превышает потребление энергии из энергосети (*например*, выработка внепиковой энергии ветра или солнечной энергии).

[236] В некоторых вариантах реализации данного изобретения доноры электронов водорода не обязательно генерируются с низким или нулевым выбросом двуокиси углерода. Однако в некоторых таких вариантах реализации данного изобретения водород получают из устойчивых или малоценных источников энергии и/или углерода с использованием способов, известных в области химической и технологической инженерии. Такие способы включают, но не ограничиваются ими, газификацию, пиролиз, паровой риформинг или автотермический риформинг сырья, включая, но не ограничиваясь этим, одно или более из следующего: сельскохозяйственные материалы, древесина, гидраты метана, солома, морские водоросли и келп, и малоценная высоколигноцеллюлозная биомасса в целом. В некоторых вариантах реализации данного изобретения синтез-газ или генераторный газ, содержащий H_2 и/или CO и/или CO_2 используется в качестве донора электронов и/или как источник углерода. В некоторых вариантах реализации данного изобретения H_2 и/или CO и/или CO_2 , содержащийся в синтез-газе или генераторном газе, дополняется H_2 , полученным с использованием возобновляемых источников 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 некоторых неограничивающих вариантах реализации данного изобретения происходит снижение содержания CO_2 и/или синтез клеточного материала, который можно использовать в качестве пищи или источника питания. В некоторых вариантах реализации данного изобретения соотношение водорода и монооксида углерода в синтез-газе 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 некоторых вариантах реализации данного изобретения соединения C_1 образуются в результате парового риформинга метана или природного газа, в частности, отработанного природного газа или природного газа, который в противном случае сжигался бы или выбрасывался в атмосферу, или биогаза, или газа из органических отходов, и подаются в виде синтез-газа и/или генераторного газа или жидкого потока соединений C_1 для культуры микроорганизмов, при этом в некоторых вариантах реализации соотношение водорода и монооксида углерода в синтез-газе или генераторном газе можно регулировать с помощью реакции конверсии водяного газа и/или улавливания углерода до того, как газ

будет доставлен в микробную культуру.

[238] Следующие Примеры предназначены для иллюстрации данного изобретения, а не его ограничения.

ПРИМЕРЫ

Пример 1. Стабильность Эмульсии

[239] Исследована способность эмульсии сопротивляться изменению своих свойств во времени.

[240] Исследуемые образцы:

- Изолят сывороточного протеина (ИСП) (50% белка)
- Цельноклеточная биомасса (ЦКБ), выращенная на сахаре (12,86% N; 70,9% белка, с использованием фактора Джонса 5,5)

[241] Процедура: Смесь 5 г белкового раствора и 5 г масла хорошо перемешивали в гомогенизаторе. Раствор инкубировали при комнатной температуре. Измеряли объем водной фазы. Процент стабильности эмульсии рассчитывали по следующей формуле:

$$\% \text{ стабильности эмульсии} = \frac{V_B - V_A}{V_B} \times 100\%$$

где: V_B представляет собой объем водной фазы до эмульсификации

V_A представляет собой объем водной фазы после установленного времени (напр., 30 мин)

Стабильность эмульсии ИСП и ЦКБ

[242] Белковый раствор готовили на дистиллированной воде: 4,58% ИСП, pH 6,50; 4,33% ЦКБ, pH 6,26. 5 г белкового раствора смешивали с 5 г кукурузного масла и гомогенизировали на цифровом гомогенизаторе ИКА Tuptax T25 в течение 5 мин. Эмульсионные растворы переносили в мерные цилиндры и измеряли объем водного слоя. Результаты приведены в Таблице 1.

Таблица 1. Стабильность Эмульсии, %

Прошедшее время	30 мин	1 ч	2 ч	22 ч
ИСП	100%	84%	74%	36%
ЦКБ	100%	100%	100%	73%

Пример 2. Эмульсионная Способность

[243] Исследована способность белкового раствора эмульгировать масло.

[244] Исследуемые образцы:

- Изолят сывороточного протеина (ИСП) (50% белка)
- Цельноклеточная биомасса (ЦКБ), выращенная на сахаре (12,86% N; 70,9% белка, с использованием фактора Джонса 5,5)

[245] Процедура: Готовили разные смеси с фиксированной массой белкового раствора и различными массами масла. Эмульсию получали с помощью гомогенизатора. Измеряли удельную проводимость каждого эмульгированного образца. Эмульсионную способность рассчитывали в точке инверсии от масло-вода (капли масла в воде) к воде-маслу (капли воды в масле) по следующей формуле:

$$\text{Эмульсионная способность} = \frac{\text{Wtg (г) масла до и после точки инверсии}}{\text{Wtg (г) использованного белка}}$$

[246] Для ИСП точка инверсии возникает при 2 г белкового раствора (4,583% твердого вещества) и 4 г и 5 г масла. Эмульсионная способность составила 98,19 г масла/г белка. Результаты приведены на **Фиг. 2**.

[247] Для ЦКБ точка инверсии возникает при 3 г белкового раствора (4,327% твердого вещества) и 4 г и 5 г масла. Эмульсионная способность составила 46,26 г масла/г белка. Результаты приведены на **Фиг. 3**.

[248] Хотя данное изобретение было описано с некоторыми подробностями посредством иллюстрации и примеров в целях ясности и понимания, специалистам в данной области техники будет очевидно, что некоторые изменения и модификации могут быть реализованы без отклонения от сущности и объема данного изобретения. Поэтому описание не должно толковаться как ограничивающее объем данного изобретения.

Все публикации, патенты и заявки на патент, упомянутые в данном документе, включены в данный документ в полном объеме посредством ссылки в той же степени, как если бы каждая отдельная публикация, патент и заявка на патент была конкретно и индивидуально указана как включенная посредством ссылки.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Усилитель вкуса, содержащий гемсодержащий полипептид из микроорганизма.
2. Усилитель вкуса по п. 1, отличающийся тем, что полипептид высвобождает гем при нагревании, тем самым придавая мясной вкус и/или аромат.
3. Усилитель вкуса по п. 1, отличающийся тем, что гемсодержащий полипептид получен из микроорганизма в виде белка одноклеточных организмов, гидролизата белка, лизата клеток, изолята белка, экстракта белка, пептидов и/или олигопептидов, и/или выделен или очищен из микроорганизма.
4. Усилитель вкуса по п. 1, отличающийся тем, что гемсодержащий полипептид представляет собой гемсодержащий домен гемсодержащего фермента.
5. Усилитель вкуса по п. 1, отличающийся тем, что микроорганизм представляет собой водородокисляющий микроорганизм.
6. Усилитель вкуса по п. 1, отличающийся тем, что водородокисляющий микроорганизм представляет собой микроорганизм *Cupriavidus*.
7. Усилитель вкуса по п. 6, отличающийся тем, что микроорганизм *Cupriavidus* представляет собой *Cupriavidus necator*.
8. Усилитель вкуса по п. 6, отличающийся тем, что водородокисляющий микроорганизм выращивают в микроаэробных условиях.
9. Усилитель вкуса по п. 1, отличающийся тем, что микроорганизм генетически модифицирован для сверхэкспрессии гемсодержащего полипептида.
10. Структурированный пищевой продукт, содержащий усилитель вкуса по п. 1 и белковый продукт из микроорганизма, при этом усилитель вкуса и белковый продукт могут быть получены из одних и тех же или разных микроорганизмов.
11. Структурированный пищевой продукт по п. 10, отличающийся тем, что

микроорганизм, из которого получают усилитель вкуса и/или белковый продукт, представляет собой микроорганизм, выращенный в хемоавтотрофных условиях.

12. Структурированный пищевой продукт по п. 11, отличающийся тем, что микроорганизм, выращенный в хемоатотрофных условиях, представляет собой микроорганизм *Cupriavidus*.

13. Структурированный пищевой продукт по п. 10, отличающийся тем, что микроорганизм, из которого получают усилитель вкуса и/или белковый продукт, представляет собой первый микроорганизм, выращенный на источнике питания, который содержит белковый продукт из второго микроорганизма.

14. Структурированный пищевой продукт по п. 13, отличающийся тем, что второй микроорганизм представляет собой микроорганизм *Cupriavidus*.

15. Структурированный пищевой продукт по п. 13, отличающийся тем, что первый микроорганизм представляет собой микроорганизм, обычно рассматриваемый как безопасный (GRAS).

16. Структурированный пищевой продукт по п. 10, отличающийся тем, что микроорганизм, из которого получают усилитель вкуса и/или белковый продукт, представляет собой генетически не модифицированный организм (не является ГМО).

17. Структурированный пищевой продукт по п. 10, отличающийся тем, что пищевой продукт не содержит биомолекул животного происхождения.

18. Структурированный пищевой продукт по п. 10, отличающийся тем, что белковый продукт включает одно или более из: белок одноклеточных организмов, лизат клеток, изолят белка, экстракт белка, гидролизат белка, свободные аминокислоты, пептиды, олигопептиды или их комбинации.

19. Структурированный пищевой продукт по п. 10, содержащий от около 5% до около 50% белка по массе, получаемого из белкового продукта микроорганизмов.

20. Структурированный пищевой продукт по п. 10, отличающийся тем, что пищевой

продукт представляет собой структурированный продукт-аналог мяса.

21. Структурированный пищевой продукт по п. 20, отличающийся тем, что структурированный продукт-аналог мяса представляет собой структурированный продукт-аналог говядины, птицы, свинины, рыбы или морепродуктов.

22. Структурированный пищевой продукт по п. 20, отличающийся тем, что структурированный продукт-аналог мяса воспроизводит текстуру и/или органолептические характеристики натурального мяса.

23. Структурированный пищевой продукт по п. 20, отличающийся тем, что структурированный продукт-аналог мяса имитирует структуру фарша или мышечного мяса.

24. Структурированный пищевой продукт по п. 10, отличающийся тем, что структурированный пищевой продукт обогащен витаминами и/или питательными веществами.

25. Структурированный пищевой продукт по п. 24, отличающийся тем, что дополнительные витамины и/или питательные вещества включают, по меньшей мере, одно из: аминокислоты, липиды, масла, жирные кислоты, витамин В12, биотин, антиоксиданты, минералы, поверхностно-активные вещества и эмульгаторы.

26. Структурированный пищевой продукт по п. 24, отличающийся тем, что структурированный пищевой продукт представляет собой структурированный продукт-аналог мяса.

27. Композиция теста для получения структурированного пищевого продукта, содержащего усилитель вкуса по п. 1 и белковый продукт из микроорганизма, при этом усилитель вкуса и белковый продукт могут быть получены из одних и тех же или разных микроорганизмов.

28. Композиция теста по п. 27, отличающаяся тем, что микроорганизм, из которого получают усилитель вкуса и/или белковый продукт, представляет собой микроорганизм, выращенный в хемоавтотрофных условиях.

29. Композиция теста по п. 28, отличающаяся тем, что микроорганизм, выращенный в хемоатотрофных условиях, представляет собой микроорганизм *Cupriavidus*.
30. Композиция теста по п. 27, отличающаяся тем, что белковый продукт включает одно или более из: белок одноклеточных организмов, лизат клеток, изолят белка, экстракт белка, гидролизат белка, свободные аминокислоты, пептиды, олигопептиды или их комбинации.
31. Композиция теста по п. 30, отличающаяся тем, что белковый продукт представляет собой гидролизат белка.
32. Композиция теста по п. 31, отличающаяся тем, что средняя молекулярная масса белков в гидролизате составляет от около 5 кДа до около 10 кДа.
33. Композиция теста по п. 31, отличающаяся тем, что гидролизат белка получают в условиях, при которых сохраняется неденатурированный глобулярный белок.
34. Композиция теста по п. 33, отличающаяся тем, что условия, при которых сохраняется неденатурированный глобулярный белок, включают мягкий лизис клеток и физическое отделение растворимых компонентов от клеточного дебриса.
35. Композиция теста по п. 33, отличающаяся тем, что частично или полностью гидролизованный белковый продукт добавляют ко второму белковому продукту для стимулирования структурирования и/или образования волокон.
36. Композиция теста по п. 35, отличающаяся тем, что второй белковый продукт содержит один или более белков пшеничной клейковины, сои, гороха, пшеницы, молока, водорослей и других белков неживотного происхождения.
37. Композиция теста по п. 27, отличающаяся тем, что содержание воды в композиции теста составляет от около 40% (масс./масс.) до около 80% (масс./масс).
38. Композиция теста по п. 27, отличающаяся тем, что прочность теста на сдвиг превышает около 1000 фунтов на кв. дюйм.

39. Способ получения структурированного пищевого продукта, включающий:
- (a) культивирование микроорганизма в присутствии источника углерода с получением таким образом биомассы, содержащей белок, при этом биомасса содержит, по меньшей мере, один гемсодержащий полипептид;
 - (b) превращение биомассы в белковый продукт; и
 - (c) переработку белкового продукта в структурированную пищевую композицию.
40. Способ получения структурированного пищевого продукта, включающий:
- (a) культивирование микроорганизма в присутствии источника углерода с получением таким образом биомассы, содержащей белок;
 - (b) превращение биомассы в белковый продукт; и
 - (c) переработку белкового продукта в структурированную пищевую композицию,
- при этом этап (b) или этап (c) включает добавление усилителя вкуса, при этом усилитель вкуса содержит гемсодержащий полипептид из микроорганизма, и при этом усилитель вкуса и белковый продукт могут быть получены из одних и тех же или разных микроорганизмов.
41. Способ по п. 39 или п. 40, отличающийся тем, что этап (a) включает хемоавтотрофные условия культивирования.
42. Способ по п. 41, отличающийся тем, что хемоавтотрофные условия культивирования включают условия микроаэробного культивирования.
43. Способ по п. 39 или п. 40, отличающийся тем, что источник углерода представляет собой газообразную молекулу C1.
44. Способ по п. 43, отличающийся тем, что газообразная молекула C1 представляет собой диоксид углерода.
45. Способ по п. 41, отличающийся тем, что микроорганизм представляет собой микроорганизм *Cupriavidus*.
46. Способ по п. 39 или п. 40, отличающийся тем, что белковый продукт включает одно

или более из: белок одноклеточных организмов, лизат клеток, изолят белка, экстракт белка, гидролизат белка, свободные аминокислоты, пептиды, олигопептиды или их комбинации.

47. Способ по п. 46, отличающийся тем, что этап (с) включает переработку белкового продукта в композицию теста.

48. Способ по п. 47, дополнительно включающий термохимическую обработку теста.

49. Способ по п. 48, отличающийся тем, что термохимическая обработка включает экструзию.

50. Способ по п. 47, отличающийся тем, что этап (с) включает процесс формования, в результате которого получают волокна.

51. Способ по п. 47, отличающийся тем, что этап (с) включает процесс образования структурированного гидроколлоида.

52. Способ по п. 39 или п. 40, отличающийся тем, что структурированный пищевой продукт представляет собой структурированный продукт-аналог мяса.

53. Способ по п. 52, отличающийся тем, что структурированный продукт-аналог мяса представляет собой структурированный продукт-аналог говядины, птицы, свинины, рыбы или морепродуктов.

54. Способ по п. 52, отличающийся тем, что структурированный продукт-аналог мяса воспроизводит текстуру и/или органолептические характеристики натурального мяса.

55. Способ по п. 52, отличающийся тем, что структурированный продукт-аналог мяса имитирует структуру фарша или мышечного мяса.

56. Термохимический процесс переработки композиции теста по п. 27 в структурированную композицию аналога мяса, включающий экструзию композиции теста для получения однонаправленных волокон.

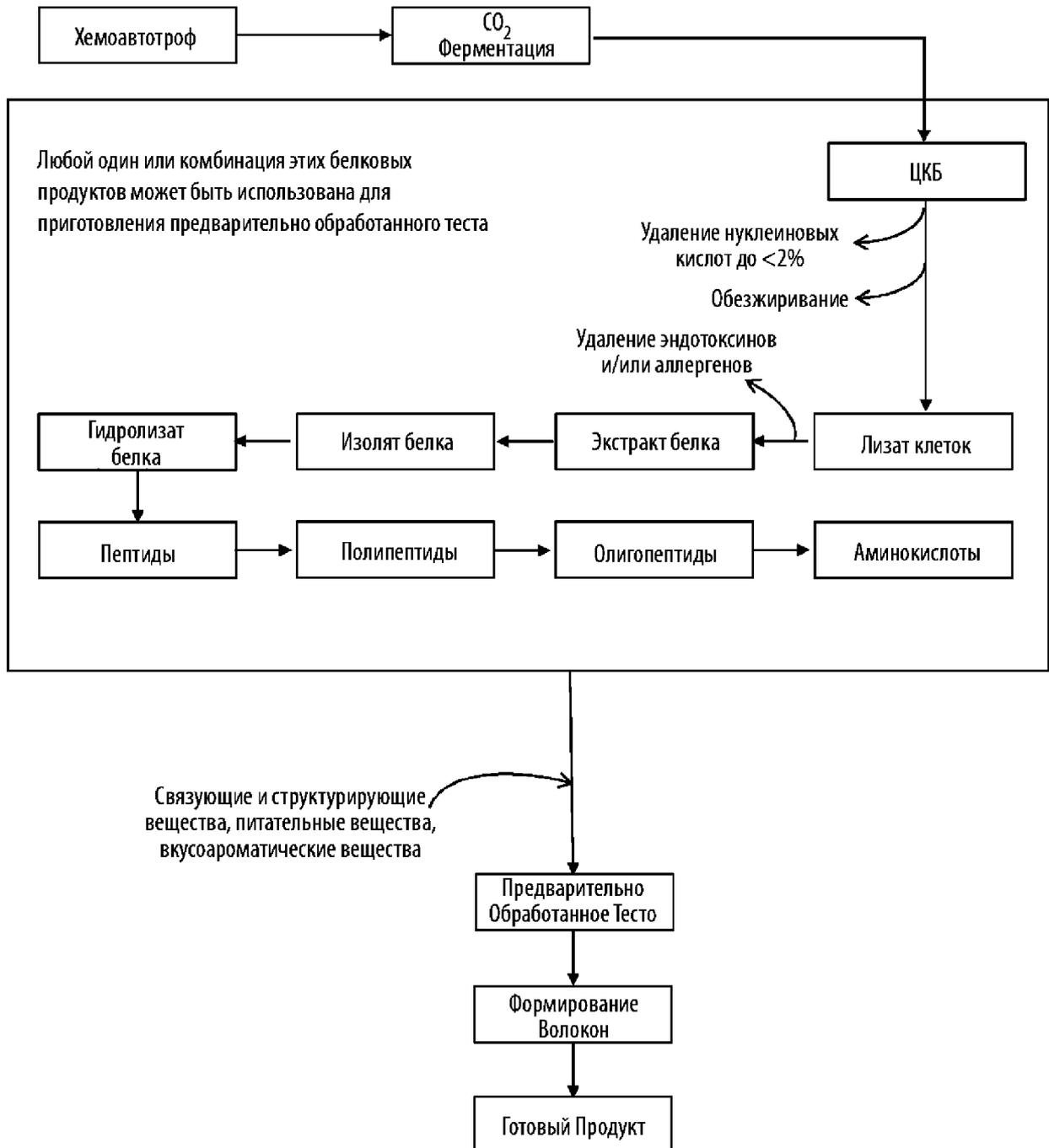
57. Термохимический процесс по п. 56, отличающаяся тем, что белковый продукт

представляет собой гидролизат белка.

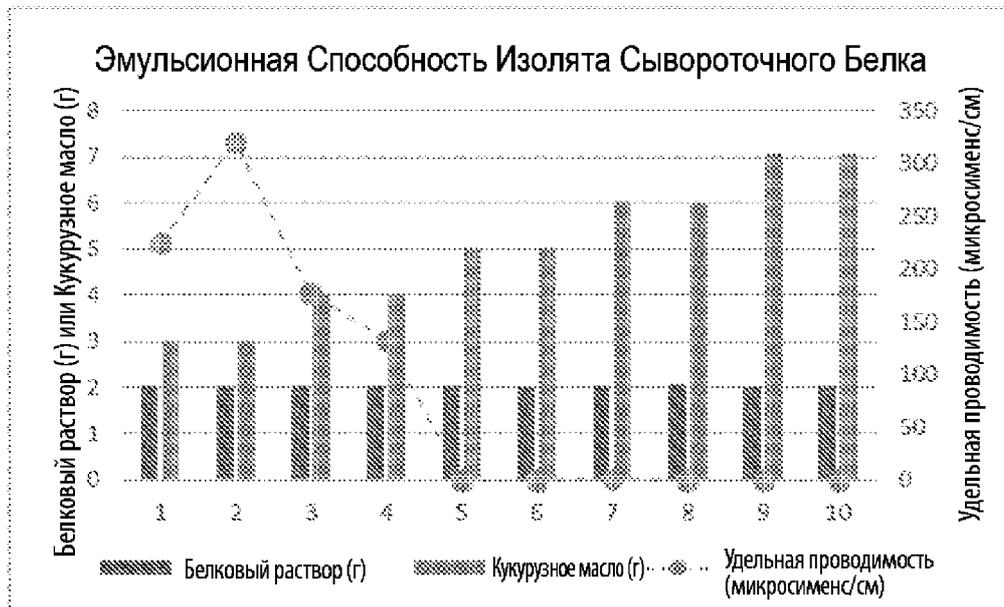
58. Термохимический процесс по п. 57, отличающийся тем, что микроорганизм представляет собой микроорганизм, выращенный в хемоатотрофных условиях.

59. Термохимический процесс по п. 58, отличающаяся тем, что микроорганизм, выращенный в хемоатотрофных условиях, представляет собой микроорганизм *Cupriavidus*.

ФИГ. 1



Фиг. 2



Фиг. 3

