



MD 1372 Z 2020.05.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **1372** (13) **Z**

(51) Int.Cl: A23K 10/12 (2016.01)
A23K 10/18 (2016.01)
A23K 10/30 (2016.01)
A23K 20/147 (2016.01)
C12N 1/16 (2006.01)
C12P 21/00 (2006.01)
C12R 1/85 (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE DE SCURTĂ DURATĂ

(21) Nr. depozit: s 2018 0093 (22) Data depozit: 2018.09.17	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2019.10.31, BOPI nr. 10/2019
(71) Solicitanți: POLESHCHUK Georgiy, MD; SENICOVSCAIA Irina, MD; GROZOVA Tatiana, MD	
(72) Inventatori: POLESHCHUK Georgiy, MD; SENICOVSCAIA Irina, MD; GROZOVA Tatiana, MD	
(73) Titulari: POLESHCHUK Georgiy, MD; SENICOVSCAIA Irina, MD; GROZOVA Tatiana, MD	

(54) Procedeu de obținere a produsului proteic furajer din materie primă cerealieră

(57) Rezumat:

1
Invenția se referă la biotehnologie, industria microbiologică și furajeră, în special la un procedeu de obținere a produsului proteic furajer din materie primă cerealieră.

Procedeul, conform invenției, include măcinarea materiei prime cerealiere până la dimensiunea particulelor de 60-160 μm, amestecarea cu apă electrolizată cu pH 5,0-6,0 în raport de 1:8, tratarea termică la temperatura de 50°C și 95°C timp de 40 și 60 min respectiv, răcirea, adăugarea a 0,5% de sulfat de amoniu, 0,0005-0,001% de scualenă și 10%

2
vol. de suspensie de drojii *Saccharomycopsis fibuligera* Y-436, Y-310 sau Y-3875, cultivarea ei în condiții aerobe la temperatura de 28°C timp de 24-48 ore, cu uscarea ulterioară a produsului proteic obținut.

Rezultatul invenției constă în accelerarea creșterii drojdiilor, sporirea biomasei de 1,4-2,3 ori, a greutateii totale a produsului de 1,2-1,4 ori și a conținutului de proteine cu 7,0-23,5%.

Revendicări: 2

MD 1372 Z 2020.05.31

(54) Process for producing a proteic feedstuff from cereal raw material**(57) Abstract:**

1
The invention relates to biotechnology, microbiological and combined feed industry, in particular to a process for producing a proteic feedstuff from cereal raw material.

The process, according to the invention, comprises grinding of cereal raw material to a particle size of 60-160 μm , mixing with electrolyzed water with pH 5.0-6.0 in a ratio of 1:8, heat treatment at a temperature of 50°C and 95°C for 40 and 60 min accordingly, cooling, addition of 0.5% ammonium sulfate, 0.0005-0.001% squalene and 10% vol.

2
suspension of *Saccharomycopsis fibuligera* Y-436, Y-310 or Y-3875 yeast, cultivation in aerobic conditions at a temperature of 28°C for 24-48 hours, with subsequent drying of the resulting proteic stuff.

The result of the invention consists in accelerating the yeast growth, increasing the biomass by 1.4-2.3 times, the total weight of the stuff by 1.2-1.4 times and the protein content by 7.0-23.5%.

Claims: 2

(54) Способ получения кормового белкового продукта из зернового сырья**(57) Реферат:**

1
Изобретение относится к биотехнологии, микробиологической и комбикормовой промышленности, в частности к способу получения кормового белкового продукта из зернового сырья.

Способ, согласно изобретению, включает размалывание зернового сырья до размера частиц 60-160 мкм, смешивание с электролизованной водой с pH 5,0-6,0 при соотношении 1:8, термическую обработку при температуре 50°C и 95°C в течение 40 и 60 мин. соответственно, охлаждение, добавление 0,5% сульфата аммония, 0,0005-

2
0,001% сквалена и 10% об. суспензии дрожжей *Saccharomycopsis fibuligera* Y-436, Y-310 или Y-3875, культивирование в аэробных условиях при температуре 28°C в течение 24-48 часов, с последующей сушкой полученного белкового продукта.

Результат изобретения состоит в ускорении роста дрожжей, увеличении биомассы в 1,4-2,3 раза, общей массы продукта в 1,2-1,4 раза и содержания белков на 7,0-23,5%.

П. формулы: 2

Descriere:

5 Invenția se referă la biotehnologie, industria microbiologică și furajeră, în special la un procedeu de obținere a produsului proteic furajer din materie primă cerealiară.

Este cunoscut procedeu de obținere a unui aditiv pentru alimentația animalelor [1], care constă în cultivarea tulpinii de drojdii *Endomycopsis fibuligera C-4* pe suprafața mediului solid constând din 42-45% tărâțe de grâu și 52-55% deșeuri vegetale (tescovină din struguri, fructe și legume, deșeuri de amidon, etc.). Soluția de uree se adaugă la mediul nutritiv solid până la umiditatea de 52-54%, astfel încât concentrația să fie de 3,0-3,5 %. Soluția de uree în continuare este neutralizată cu acid fosforic astfel încât pH-ul mediului nutritiv după umezire și sterilizare să fie în intervalul 4,8-5,0. Fermentația în faza solidă se efectuează la o temperatură de 30-35° C, cu aerare la 98-100% de umiditate a aerului. Durata procesului de fermentație a fost de 20-24 ore. La sfârșitul fermentației conținutul de proteină brută a fost de 28-40% cu conținut de proteine în mediul nutritiv inițial 9-21%. Dezavantajul procedurii propus este rata scăzută a proceselor de transfer de masă în mediul nutritiv solid, conținutul redus de proteină brută din produsul final și consumul ridicat de acid fosforic pentru a crea reacția optimă a mediului pentru creșterea tulpinii de drojdii.

20 Mai este cunoscut procedeu de obținere a unui produs proteic din materii prime vegetale care conțin amidon și celuloză [2], care cuprinde prelucrarea termică a materiei prime, urmată de cultivarea microorganismelor într-un mediu nutritiv care conține materialul vegetal ca sursă de carbon, micro- și macroelemente, în condiții de aerare și în final, uscarea produsului proteic. Acest procedeu este caracterizat prin aceea că înainte de tratament cu reactiv termic, materia primă este măcinată și diluată cu apă, după ce se adaugă biocatalizator într-o cantitate de $1 \cdot 10^{-4}$ - $1 \cdot 10^{-7}$ g/kg de materii prime, iar prelucrarea termoreactantă se efectuează în două etape: mai întâi la pH = 4,5-6,0 și 50-60° C timp de 15-30 min, și după aceea la pH = 2,5-4,0 și 80-90° C timp de 30-45 min, cultivarea microorganismelor se efectuează în mod continuu. Ca microorganisme producătoare sunt utilizate tulpini de drojdii *Endomycopsis fibuligera Y-2173* sau fungi *Aspergillus niger F-710*, iar ca un biocatalizator se folosește sarea N-tris-2-hidroxiethylamoniu a acidului 2-clorfenoxiacetic sau sarea N-tris-2-hidroxiethylamoniu a acidului 4-clorfeniltoacetic. Dezavantajul acestui procedeu este utilizarea unor reactivi rari și costisitori.

35 Este cunoscut un procedeu de obținere a biomasei [3], care cuprinde creșterea drojdiilor în condiții de aerare pe un mediu nutritiv, care conține o sursă de carbon, săruri minerale și microelemente, caracterizat printr-un conținut în mg/l: N₂ 300-700, P 20-150, K⁺ 100-800, Fe⁺⁺ 7-15, Mg⁺⁺ 10-30, Zn⁺⁺ 0,5-5, Mn⁺⁺ 0,5-2, urmată de separarea produsului dorit. Procedeu propus este caracterizat prin aceea că se utilizează tulpină de drojdii *Saccharomycopsis fibuligera (VSB-12) Y-2173*, precum și materii prime vegetale care conțin amidon ca sursă de carbon, care sunt tratate preliminar cu apă de amoniac cu o concentrație de cel puțin 25%, luată într-o cantitate de până la 0,1 m³ pe tonă de produs finit, fiind efectuată la o temperatură de 65-75° C, pH = 6,0-7,0 timp de 3-3,5 ore în condiții de exces de ioni de fier și fosfor. Dezavantajele acestui procedeu sunt utilizarea de reactivi costisitori și o temperatură de cultivare suficient de ridicată (30-34° C), care crește consumul de energie și costul produsului furajer. În plus, durata de cultivare a tulpinii nu este cunoscută.

50 Cea mai apropiată în esența tehnică este metoda de bioconversie a materialului vegetal cu producerea de proteine furajere [4]. Orezul substandard (în amestec sub formă de boabe întregi, coji și făină) se supune bioconversiei. Cultura de drojdii *Endomycopsis fibuligera* (VKPM N Y-2173), care are capacitate amilolitică, este utilizată ca biodestructor. Materiile prime sunt supuse măcinării fine, se trece printr-o sită cu un diametru de 1 mm, se diluează cu apă în raport de 1: 8, se adaugă acid fosforic la pH 5,5 și se încălzește la o temperatură de 70° C, apoi se menține 30 de minute în aceleași condiții, se răcește și se adaugă, g/l : sulfat de amoniu 2,0; clorură de potasiu 0,5; sulfat de magneziu 0,35; sulfat de fier (feros) 0,05. În aparatul de biodegradare se adaugă activator de creștere microbiană: săruri de amoniu a acizilor arilacetici cu formula generală C₆H₄R₁·R₂C₂H₂O₂·NH·C₆H₅O₃, unde R₁ = H, Cl, CH₃; R₂ = -O, -S, -SO₂, într-o cantitate de $1,0 \cdot 10^{-10}$ g/g de produs proteic. Folosind mediul nutritiv obținut, tulpina de drojdii *E. fibuligera* este crescută timp de 18 ore la temperatura de 32° C, pH = 4,5, în condiții de aerare 10 l/oră, fără agitare mecanică.

La sfârșitul procesului faza lichidă este separată de faza solidă, care este apoi uscată. Ca rezultat, se obține un produs cu un conținut de proteine de 46,0 %, se consumă 1,23 kg de amestec de cereale pentru a produce 1 kg de produs.

5 Prepararea materiilor prime de cereale înainte de prepararea mediului nutritiv se realizează prin măcinarea acestuia la o dimensiune a particulelor de 1 mm, ceea ce este insuficient pentru un proces eficient de saharificare.

In plus, dezavantajul acestei metode este utilizarea hidrolizei acide folosind acid fosforic, care necesită echipamente speciale, respectarea normelor de siguranță și disponibilitatea protecției personalului atunci când lucrează cu substanțe agresive.

10 Mediul nutritiv pentru cultivarea tulpinii conține 4 componente minerale, iar ca activator al procesului se propune utilizarea a 3 compuși chimici rari și costisitori, ceea ce mărește semnificativ costul produsului furajer. Dezavantajul acestei metode este, de asemenea, un conținut scăzut de proteine în produsul rezultat.

15 Problema pe care o rezolvă prezenta invenție este dezvoltarea unui procedeu mai ieftin și eficient pentru obținerea unui produs cu un conținut sporit de proteine din materii prime de cereale, care poate fi utilizat ca aditiv în alimentația păsărilor și animalelor de fermă.

20 Procedeu de obținere a produsului proteic furajer din cereale include măcinarea materiei prime cerealiere până la dimensiunea particulelor de 60-160 μm, amestecarea cu apă electrolizată cu pH 5,0-6,0 în raport de 1:8, tratarea termică la temperatura de 50°C și 95°C timp de 40 și 60 min respectiv, răcirea, adăugarea a 0,5% de sulfat de amoniu, 0,0005-0,001% de scualenă și 10% vol. de suspensie de drojdii *Saccharomycopsis fibuligera* Y-436, Y-310 sau Y-3875, cultivarea ei în condiții aerobe la temperatura de 28°C timp de 24-48 ore, cu separarea fazei solide și uscarea ulterioară a produsului proteic obținut.

25 Procedeu implică pregătirea materiei prime (grâu, porumb) prin măcinarea acesteia la particule cu dimensiunea de 60-160 μm. În continuare, se prepară o suspensie pe bază de apă electrolizată (anolit) și materie măcinată într-un raport de 1:8. Suspensia rezultată trece prin tratament termic în două etape la o temperatură de 50° C și 95° C timp de 40 și 60 minute. Suspensia se răcește la o temperatură de 30° C cu conținut de glucoză 7,5-10,0 % și se adaugă o sursă de azot sub formă de sulfat de amoniu 0,5 %. În plus, la mediul nutritiv răcit se adaugă într-o doză de 0,0005-0,001% un activator, care este scualenă conținută în ulei sau semințe de amarant. Ca producători de proteine furajere din materii prime cerealiere și deșeuri de cereale sunt folosite tulpini *Saccharomycopsis fibuligera* Y-436, Y-310 sau Y-3875, care sunt depozitate în Colecția Rusă Națională de Microorganisme Industriale. Tulpina este adăugată într-o cantitate de 10 % din volumul total al hidromodulului. Titrul inițial trebuie să fie de cel puțin (25-50)·10⁶ celule/ml de suspensie. Cultivarea se efectuează 24-48 ore la o temperatură de 28° C în condiții aerobe.

35 Rezultatul invenției constă în accelerarea creșterii drojdiilor, sporirea biomasei de 1,4-2,3 ori, a greutateii totale a produsului de 1,2-1,4 ori și a conținutului de proteine cu 7,0-23,5%.

40 Rezultatul tehnic, care include accelerarea creșterii și obținerea de biomasă proteică, se datorează măcinării materiei prime din cereale la o dimensiune a particulelor de 60-160 μm, efectului de sinergie a scualenei și apei electrolizate (anolit) în compoziția amestecului nutritiv, ceea ce duce la o scădere a timpului de adaptare a tulpinilor la substraturi noi, reducând astfel timpul de fermentare. Aceste componente tehnologice furnizează o creștere a masei produsului proteic furajer cu conținut ridicat de proteine.

Rezultatul tehnic se realizează prin (tab. 1):

- măcinarea materiilor prime din cereale într-o moară la o dimensiune a particulelor de 60-160 μm;
- 50 • utilizarea apei electrolizate (anolit) care se distinge prin mediul acid - pH-ul cel mai optim pentru creșterea tulpinilor de drojdii *Saccharomycopsis*;
- utilizarea unei componente minerale, care este sulfat de amoniu (NH₄)₂SO₄;
- utilizarea unui activator de creștere, în special scualenă (2,6,10,15,19,23-hexametiltetracoza- 2,6,10,14,18,22-hexaen), conținută în ulei sau semințe de amarant;
- 55 • utilizarea tulpinilor de drojdie din genul *Saccharomycopsis* în calitate de producători de proteină microbială furajeră, care au activitate amilazică și pectinazică și se caracterizează prin creșterea activă pe substraturi de plante (deșeuri de cereale). Tulpinile sunt depozitate în Colecția Rusă Națională de Microorganisme Industriale (State Research

Institute of Genetics and Selection of Industrial Microorganisms of NRC «Kurchatov Institute») sub numerele Y-436, Y-310 și Y-3875.

Tabelul 1

Compararea condițiilor dintre procedeul propus și cea mai apropiată soluție

Condiții		Procedeul propus	Soluție apropiată
Tulpină producătoare de proteină		<i>S. fibuligera</i> Y-436, Y-310 sau Y-3875	<i>E.fibuligera</i> VKPM N Y-2173
Prepararea materiilor prime	Măcinare	60 ... 160 μm	1mm
	Tratamentul chimic	-	H ₃ PO ₄
	Tratamentul termic	50-95°C	70°C
Raportul optim între substrat și apă (hidromodul)		1:8	1:8
pH-ul de cultivare		5,0-5,5	4,5-5,5
Temperatura de cultivare (t°)		28-30°C	32°C
Timpul de cultivare (ore)		24-48	18
Componente suplimentare ale mediului nutritiv		(NH ₄) ₂ SO ₄	(NH ₄) ₂ SO ₄ , KCl, MgSO ₄ , FeSO ₄
Lichid de cultivare		Anolit	Apă de la robinet
Activator de creștere microbială		Scualenă	Săruri de amoniu a acizilor arilacetici cu formula generală: C ₆ H ₄ R ₁ ·R ₂ C ₂ H ₂ O ₂ ·NH·C ₆ H ₁₅ O ₃ , unde R ₁ = H, Cl, CH ₃ ; R ₂ = -O, -S, -SO ₂
Proteină brută (%)		44,9-51,9	46,0

5

Invenția permite scurtarea fazei de lag a creșterii tulpinii și îmbunătățirea adaptării acesteia la substrat, accelerând astfel procesele microbiologice de creștere, multiplicare și acumulare a biomasei, ceea ce conduce la o reducere semnificativă a costului procedurii de cultivare a drojdiilor *S. fibuligera*, precum și la creșterea randamentului produsului furajer.

10

Acest rezultat se obține datorită proprietății scualenei (componentă de amarant) de a influența celulele microbiene într-un mod special.

Amarantul (*Amaranthus cruentus*) - o plantă din familia *Amaranthaceae* cu conținut ridicat de compuși proteici în masa verde și semințe. Conține un număr mare de substanțe biologice active: rutină, amarantină, vitaminele C și E, scualenă, care este reprezentant al structurii chimice a triterpenoidelor, unele oligoelemente cu proprietăți antioxidante. Scualenă are un efect asupra membranelor celulare, modificând încărcătura membranelor și crescând astfel permeabilitatea acestora și accelerând transportul nutrienților în celulă și eliberarea de metaboliți din ea.

15

O altă componentă activă a mediului nutritiv este apa electrolizată - anolit, având o reacție acidă a mediului, care este optimă pentru creșterea drojdiilor, permite adaptarea rapidă a tulpinilor la substraturi, precum și creșterea și reproducerea lor mai rapidă.

20

Combinarea acestor proprietăți dă un efect sinergic, care se exprimă prin accelerarea procesului de consum al materiilor prime din cereale, prin mărirea ratei de creștere a celulelor și acumularea de biomasă.

25

Tulpinile *S. fibuligera* Y-436, Y-310 sau Y-3875 sunt utilizate ca producători de proteine.

Tulpina *S. fibuligera* Y-436 este un producător industrial de pectinaze și amilaze. Pe YPGA-mediul (drojdie-peptonă-glucoză-agar) formează colonii albe, netede, mate, de consistență de pastă, când cultura devine veche, începe să se prăbușească și să se transforme în colonii de funghi cu un miceliu adevărat. Forma celulară este de la oval la alungită cu o dimensiune (4,0-8,0)x(6,0-18,0) μm. Tulpina *S. fibuligera* Y-436 asimilează

30

amidon solubil, glucoză, arabinoză, galactoză, zaharoză, maltoză, lactoză, rafinoză, glicerol și manitol. Tulpina utilizează azot organic și anorganic, formează sedimente și filme pe medii lichide. Rata de reproducere pe YPGB-mediul este de 0,40 celule pe oră. Temperatura optimă pentru creșterea tulpinii este $t = 28^{\circ} \text{C}$, $\text{pH} = 5,0-5,5$. Tulpina *S. fibuligera* Y-436 nu este modificată genetic.

Tulpina *S. fibuligera* Y-310 se referă la drojdie din familia *Saccharomycetaceae*. Tulpina este un producător de proteine furajere pe substraturi de plante (deșeuri de cereale). Pe YPGA-mediul se formează inițial colonii albe, apoi galbeni-marou. Celulele au o formă ovală sau alungită cu o dimensiune $(4,0-8,0) \times (6,0-18,0) \mu\text{m}$. La vârsta de peste 2 zile apare un miceliu adevărat, suprafața coloniilor devine pufoasă. Tulpina utilizează azot organic și anorganic. Rata de reproducere pe YPGB-mediul este de 0,36 celule pe oră. Temperatura optimă pentru creșterea tulpinii este $t = 28^{\circ} \text{C}$, $\text{pH} = 5,0-5,5$. Tulpina *S. fibuligera* Y-310 nu este modificată genetic.

Tulpina *S. fibuligera* Y-3875 se referă la drojdie din familia *Saccharomycetaceae*. Cultura este un producător de proteine furajere pe substraturi vegetale (deșeuri de cereale). Pe YPGA-mediul se formează inițial colonii albe, apoi galbeni-marou. La vârsta de 2 zile apare un miceliu adevărat, suprafața coloniilor devine pufoasă. Celulele au o formă ovală sau alungită cu o dimensiune $(4,0-8,0) \times (6,0-18,0) \mu\text{m}$. *S. fibuligera* Y-3875 asimilează arabinoză, glucoză, galactoză, zaharoză, maltoză, lactoză, glicerol și manitol. Tulpina utilizează azot organic și anorganic. Rata de reproducere pe YPGB-mediul este de 0,38 celule pe oră. Temperatura optimă pentru creșterea tulpinii este $t = 28^{\circ} \text{C}$, $\text{pH} = 5,0-5,5$. Tulpina *S. fibuligera* Y-3875 nu este modificată genetic.

Exemple de realizare a invenției

Exemplul 1

Grâul a fost măcinat la o dimensiune a particulelor de 60-160 μm . Apa a fost încălzită la o temperatură de 50°C , s-a adăugat la materii prime de grâu măcinat la un raport de 1: 8; suspensia a fost păstrată timp de 40 de minute la 60°C , după aceea a fost încălzită din nou la 95°C , peste 60 de minute temperatura a fost redusă la 30°C . În suspensia răcită a fost adăugată o sursă de azot sub formă de sulfat de amoniu 0,5 %, precum și scualenă (cuprinsă în ulei de amarant), care a fost utilizată ca un activator, la o doză de 0,0005-0,002 %. Suspensia a fost răcită până la temperatura optimă pentru cultivarea drojdiilor. Cultura de *Saccharomycopsis fibuligera* Y-436 a fost însămânțată într-un volum de 10% din volumul total al hidromodulului după răcirea amestecului nutritiv la 28°C . Cultivarea a fost efectuată într-un incubator de agitare la 120 rpm, la 28°C timp de 48 de ore în condiții aerobe.

Valorile pH-ului au scăzut în toate variantele experimentului ca urmare a utilizării carbohidraților (tab. 2). Totuși, valorile pH-ului într-un amestec nutritiv cu scualenă au scăzut semnificativ mai mult decât în varianta fără scualenă. Cel mai mare efect a fost observat la utilizare de 0,002% de scualenă. Valoarea pH-ului după 48 de ore a fost de 3,78 și într-un mediu fără scualenă - 4,42. Aceste date indică în mod indirect o utilizare mai rapidă a carbohidraților de către tulpina producătoare în mediul cu adaos de 0,002 % de scualenă.

Tabelul 2

Caracteristica fizico-chimică a amestecului nutritiv cu scualenă în procesul de creștere a tulpinii *S. fibuligera* Y-436 în experimentul 1

Varianta	pH			Carbohidrați, %		
	0 ore	24 ore	48 ore	0 ore	24 ore	48 ore
Fără scualenă	6,09	5,00	4,42	7,0	8,0	7,2
Scualenă 0,0005%	6,09	4,57	3,85	7,0	8,0	7,2
Scualenă 0,001%	6,09	4,53	3,83	7,0	8,0	7,2
Scualenă 0,002%	6,09	4,43	3,78	7,0	8,0	6,8

Adăugarea de scualenă conținută în ulei de amarant, la toate dozele a influențat creșterea numărului de celule ale tulpinii *S. fibuligera* Y-436 după 24 și 48 de ore de incubare (tab. 3). Numărul de celule a crescut de 2,2-2,3 ori, folosind doze de scualenă 0,0005-0,001 % după 24 ore de incubare, și de 1,4 ori după 48 de ore de incubare. Datorită

5 utilizării de scualenă, tulpina a atins faza staționară după 24 de ore de cultivare, în același timp în varianta fără scualenă numai după 48 de ore. Adăugarea de scualenă a contribuit nu doar la o creștere mai rapidă a tulpinii, dar, de asemenea, la reducerea timpului de trecere a fazelor de creștere. Astfel, durata cultivării este de 2 ori mai scurtă, biomasa culturii crește de 1,6-2,2 ori, iar greutatea totală a produsului de 1,2-1,4 ori. Conținutul de proteine brute din produsul final suplimentat cu scualenă constituie 44,9–47,3 %.

Tabelul 3

Numărul celulelor de *S. fibuligera Y-436*, greutatea sedimentului și conținutul de proteine brute in experimentul 1

Varianta	Numărul celulelor ·10 ⁶ ml ⁻¹			Greutatea sedimentului, g l ⁻¹		Conținutul de proteine brute, %
	0 ore	24 ore	48 ore	total	biomasa	
				48 ore		
Fără scualenă	34,5	63,0	90,0	181,1	51,1	38,3
Scualenă 0,0005%	34,5	138,0	123,8	210,5	80,5	44,9
Scualenă 0,001%	34,5	141,5	124,3	225,5	95,5	46,3
Scualenă 0,002%	34,5	113,3	129,3	244,3	114,3	47,3

10

Exemplul 2

Amestecul nutritiv pentru cultivarea tulpinii *S. fibuligera Y-436* a fost preparat conform exemplului nr. 1 utilizând apă electrolizată, fără adăugarea de scualenă. Anolit, catolit și apă mixtă s-au obținut utilizând dispozitivul "Ecovod-6" (Ecovod LTD, Ucraina). Parametrii fizico-chimici ai amestecului nutritiv, preparat pe baza apei electrolizate sunt prezentate in tabelul 4.

15

Tabelul 4

Caracteristica fizico-chimică a amestecului nutritiv, preparat pe baza apei electrolizate, în perioada de creștere a tulpinii *S. fibuligera Y-436* in experimentul 2

Varianta	pH			O ₂ , ppm			TDS, g l ⁻¹			Carbohidrați, %		
	0 ore	24 ore	48 ore	0 ore	24 ore	48 ore	0 ore	24 ore	48 ore	0 ore	24 ore	48 ore
Apă de la robinet	6,59	4,71	4,00	2,92	0,12	0,12	4,04	6,91	6,67	7,5	8,0	7,8
Catolit	6,85	4,97	3,91	3,93	0,13	0,11	3,63	7,12	7,17	7,5	7,5	6,5
Anolit	4,38	3,98	3,71	2,35	0,15	0,43	5,53	8,63	8,60	7,5	7,8	7,0
Apă mixtă	6,16	4,51	3,99	5,08	0,20	0,16	3,63	7,06	7,11	7,5	7,7	7,1

20

pH-ul inițial al mediului cu catolit a fost 6,85, cu anolit - 4,38, cu apă mixtă - 6,16, in comparație cu apa de la robinet - 6,59. Ca urmare a creșterii și a consumului de substrat de către tulpina producătoare, pH-ul mediului nutritiv s-a schimbat in mod semnificativ spre partea acidă, în special în varianta cu anolit - până la 3,71. Conținutul de oxigen, de asemenea, a scăzut în timpul cultivării.

25

Datorită reacției acide a mediului, anolitul a contribuit la o creștere a activității generatoare a tulpinii cu 34,3% în comparație cu apa de la robinet (tab. 5).

Tabelul 5

Dinamica creșterii tulpinii *S. fibuligera Y-436* pe amestecul nutritiv pe bază de apă electrolizată (experimentul 2)

30

Varianta	Numărul celulelor ·10 ⁶ ml ⁻¹		
	0 ore	24 ore	48 ore
Apă de la robinet	8,9	61,5	68,0
Catolit	8,9	52,0	70,0
Anolit	8,9	79,0	91,3

Apă mixtă	8,9	74,5	48,0
-----------	-----	------	------

Exemplul 3

Amestecul nutritiv pentru cultivarea tulpinii *S. fibuligera Y-436* a fost preparat conform exemplului nr. 1, utilizând apă electrolizată cu adăugarea de scualenă. Anolitul a fost preparat conform exemplului nr. 2.

Utilizarea scualenei în doze de 0,0005-0,001 % ca aditiv într-un amestec nutritiv preparat pe bază de anolit, a promovat activarea creșterii și reproducerii tulpinii *S. fibuligera Y-436* (tab. 6). Numărul de celule a crescut de 1,6-1,7 ori după 48 de ore de incubare, folosind scualenă în doze de 0,0005-0,001%. Biomasa tulpinii a crescut cu 23,3-34,9%, greutatea totală a produsului (greutatea sedimentului) - cu 5,8-8,7%, iar conținutul de proteine brute din produsul final - de la 48,2 % până la 51,7-51,9 %.

Tabelul 6

Numărul de celule ale tulpinii *S. fibuligera Y-436*, greutatea sedimentului și conținutul de proteine brute (experimentul 3)

Varianta	Numărul celulelor · 10 ⁶ ml ⁻¹			Greutatea sedimentului, g l ⁻¹		Conținutul de proteine brute, %
	0 ore	24 ore	48 ore	total	biomasa	
					48 ore	
Fără scualenă	8,0	80,8	122,5	173,0	43,0	48,2
Scualenă 0,0005%	8,0	76,0	195,0	188,0	58,0	51,7
Scualenă 0,001%	8,0	77,8	212,5	183,0	53,0	51,9

Exemplul 4

Amestecul nutritiv pentru cultivarea tulpinii *S. fibuligera Y-436* a fost preparat conform exemplului nr. 1, pe bază de anolit suplimentat cu scualenă. Porumbul a fost folosit ca materie primă. Anolitul a fost preparat conform exemplului nr. 2. Ca rezultat al creșterii și înmulțirii tulpinii după 48 ore, pH-ul amestecului nutritiv a scăzut de la 5,55 la 3,67, iar conținutul de O₂ a scăzut de la 1,30 la 0,06-0,07 ppm. Numărul de celule ale tulpinii *S. fibuligera Y-436* a crescut de 1,4-1,6 ori, conținutul de proteine brute din produsul final - de la 41,4 % până la 44,9-45,5 % în variante cu scualenă comparativ cu varianta fără scualenă (tab. 7).

Tabelul 7

Numărul de celule ale tulpinii *S. fibuligera Y-436* și conținutul de proteine brute din produsul final pe amestecul nutritiv pe bază de anolit cu adăugarea de scualenă (experimentul 4)

Varianta	Numărul celulelor · 10 ⁶ ml ⁻¹			Conținutul de proteine brute, %
	0 ore	24 ore	48 ore	
Fără scualenă	8,3	21,8	122,5	41,4
Scualenă 0,0005%	8,3	19,8	170,0	44,9
Scualenă 0,001%	8,3	35,8	197,5	45,5

Cel mai mare efect a fost observat la utilizarea scualenei la o doză de 0,001 %, activarea a avut loc după 24 de ore.

Exemplul 5

Amestecul nutritiv pentru cultivarea tulpinii *S. fibuligera Y-310* a fost preparat conform exemplului nr. 1, pe bază de anolit suplimentat cu scualenă. Făina de grâu a fost folosită ca materie primă. Anolitul a fost preparat conform exemplului nr. 2. Ca rezultat al creșterii și înmulțirii tulpinii după 48 de ore, pH-ul amestecului nutritiv a scăzut de la 5,45 la 3,50, conținutul de O₂ a scăzut de la 1,50 la 0,05-0,07 ppm, carbohidrații de la 7,3 % la 6,2 %. Activarea creșterii tulpinilor a fost observată după 24 de ore. Numărul celulelor de *S. fibuligera Y-310* a crescut după 48 de ore de 1,4-2,3 ori în variante cu scualenă în

comparație cu varianta fără scuolenă (tab. 8). Conținutul de proteine brute din produsul final preparat pe bază de anolit și suplimentat cu scuolenă constituie 50,3-51,2 %.

Tabelul 8

5 Numărul de celule ale tulpinii *S. fibuligera Y-310* și conținutul de proteine brute din produsul final utilizând un amestec nutritiv cu scuolenă pe bază de anolit (experimentul 5)

Varianta	Numărul celulelor · 10 ⁶ ml ⁻¹			Conținutul de proteine brute, %
	0 ore	24 ore	48 ore	
Fără scuolenă	9,0	13,5	67,5	47,0
Scuolenă 0,0005%	9,0	15,8	94,8	50,3
Scuolenă 0,001%	9,0	19,9	159,3	50,9
Scuolenă 0,002%	9,0	17,1	155,6	51,2

Exemplul 6

10 Amestecul nutritiv pentru cultivarea tulpinii *S. fibuligera Y-3875* a fost preparat conform exemplului nr. 1, pe baza de anolit suplimentat cu scuolenă. Făina de grâu a fost folosită ca materie primă. Anolitul a fost preparat conform exemplului nr. 2. Numărul celulelor de *S. fibuligera Y-3875* a crescut de 1,6-1,7 ori pe mediu cu scuolenă comparativ cu varianta fără scuolenă (tab. 9) ca rezultat al creșterii și înmulțirii tulpinii după 48 de ore. Cel mai eficient a fost utilizarea de scuolenă într-o doză de 0,0005-0,001 %, activarea a fost observată după 24 de ore. Conținutul de proteine brute din produsul final preparat pe bază de anolit și suplimentat cu scuolenă constituie 49,6-50,9 %.

Tabelul 9

15 Numărul de celule de *S. fibuligera Y-3875* și conținutul de proteine brute din produsul final utilizând un amestec nutritiv bazat pe anolit cu scuolenă (experimentul 6)

Varianta	Numărul celulelor · 10 ⁶ ml ⁻¹			Conținutul de proteine brute, %
	0 ore	24 ore	48 ore	
Fără scuolenă	11,4	28,9	86,7	45,1
Scuolenă 0,0005%	11,4	47,0	141,2	50,9
Scuolenă 0,001%	11,4	59,3	148,6	50,4
Scuolenă 0,002%	11,4	62,1	124,5	49,6

20 Rezultatele obținute demonstrează că durata cultivării tulpinii analizate s-a redus de 2 ori în comparație cu varianta fără scuolenă și apă de la robinet, ceea ce este condiționat de utilizarea adaosului biologic activ de scuolenă ca activator, care are un efect asupra membranelor celulare, modificând încărcătura membranelor și crescând astfel permeabilitatea acestora și accelerând transportul nutrienților în celulă și eliberarea de metaboliți din ea, precum și de utilizarea apei electrolizate - anolit, care are o reacție acidă a mediului - optimă pentru creșterea drojdiilor, permite adaptarea rapidă a tulpinilor la substraturi și creșterea și reproducerea lor mai rapidă. Ca rezultat al experimentelor s-a dovedit că biomasa culturii s-a mărit de 1,4-2,3 ori, greutatea totală a produsului de 1,2-1,4 ori, iar conținutul de proteine a crescut cu 7,0-23,5%. De asemenea, procedeul elimină
25 utilizarea hidrolizei acide și nevoia de reactivi costisitori, astfel, procesul de producție și
30 produsul final este mai sigur din punct de vedere ecologic.

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. SU 1507787 A1 1989.09.15
2. RU 2081166 C1 1997.06.10
3. RU 2437931 C1 2011.12.27
4. RU 2092547 C1 1997.10.10

(57) Revendicări:

1. Procedeu de obținere a produsului proteic furajer din materie primă cerealiară, care include măcinarea materiei prime cerealiare până la dimensiunea particulelor de 60-160 μm , amestecarea ei cu apă electrolizată cu pH 5,0-6,0 în raport de 1:8, tratarea termică repetată a suspensiei obținute la temperatura de 50°C și 95°C timp de 40 și 60 min respectiv, la suspensia răcită se adaugă 0,5% de sulfat de amoniu, 0,0005-0,001% de scuolenă și 10% vol. de suspensie de drojzii *Saccharomycopsis fibuligera* Y-436, Y-310 sau Y-3875 cu titrul de (25-50)·10⁶ celule/ml, care se cultivă în condiții aerobe la temperatura de 28°C timp de 24-48 ore, cu uscarea ulterioară a produsului proteic obținut.

2. Procedeu, conform revendicării 1, în care se utilizează scuolenă din ulei sau semințe de amarant.