

УДК 663.1:664: 66.081.63

ОСНОВЫ СОЗДАНИЯ ОПТИМАЛЬНЫХ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОИЗВОДСТВ ПИЩЕВЫХ И КОРМОВЫХ БИОДОБАВОК*В.Л. Кудряшов, Н.С. Погоржельская, Ю.А. Борцова, Е.Н. Соколова, Н.А. Фурсова, В.А. Алексеев**ВНИИ пищевой биотехнологии – филиал ФИЦ питания, биотехнологии и безопасности пищи, Москва, Россия*

В дополнение к традиционным областям применения биотехнологических методов при производстве целого ряда пищевых продуктов (сыра, вина, пива, кисломолочных напитков, творога, этанола и др.) в мире интенсивно развивается современная пищевая биотехнология представляющая собой производства новых пищевых добавок и ингредиентов, содержащих биологически активные (ценные) вещества (БАВ). Они вводятся для обогащения, улучшения органолептики, повышения хранимоспособности, улучшения внешнего вида традиционных продуктов питания, а также при производстве принципиально новых пищевых продуктов, а том числе для спортивного, детского, геродиетического, функционального и лечебно-профилактического питания.

Ингредиенты используются также в качестве вспомогательных добавок для ускорения, удешевления, исключения денатурации БАВ сырья и совершенствования собственно самих технологических процессов производства продуктов питания.

К сожалению, подавляющее большинство пищевых ингредиентов в н. вр. импортируется. Поэтому, создание в РФ производств для их импортозамещения является актуальной научно-технической социально востребованной задачей, что подтверждается «Комплексной программой развития биотехнологий в Российской Федерации на период до 2020 года (утв. Правительством РФ от 24 апреля 2012 г. № 1853п-П8). Стратегической целью **Программы** является выход России на лидирующие позиции в области разработки и широкого освоения биоиндустрии, которая наряду с наноиндустрией и IT-технологиями должна стать основой модернизации и построения постиндустриальной экономики. Долгосрочная цель ее реализации – обеспечение в 2020 году объема биоэкономики России в размере 1 % ВВП, а в 2030 году – не менее 3 % ВВП.

В этой Программе среди 9-ти основных приоритетных направлений **выделена – пищевая биотехнология**, основной современной востребованной продукцией которой являются различные биодобавки и биоингредиенты (ферментные препараты, витамины, растительные экстракты, белки, незаменимые аминокислоты, про-и пребиотики, закваски, натуральные красители и ароматизаторы, вкусовые добавки, пищевые кислоты, бактериоцины и др. БАВ), Они вводятся в продукты питания для обогащения полезными (функциональными, лечебно-профилактическими) веществами и совершенствования (интенсификации) самих технологических процессов их производства.

Линии по производству продуктов пищевой биотехнологии включают следующие стадии:

– приготовление посевного материала (включает подбор высокопродуктивного, селекцию, хранение в музее штамма – продуцента, накопление его последовательным выращиванием, засев в биореактор (ферментер, дрожжегенератор));

– приготовление субстрата – питательной среды (выбор, подготовка и смешивание компонентов среды, стерилизация);

– культивирование (ферментация, биосинтез, накопление биомассы и / или целевых продуктов их жизнедеятельности) в аэробных или анаэробных условиях;

– отделение биомассы штамма-продуцента от культуральной жидкости (к.ж.);

– выделение, очистка, концентрирование, выпаривание и / или сушка целевого продукта (биопрепарата, ингредиента, БАВ);

– контроль ОТК, расфасовка, упаковка, маркировка;

– переработка и утилизация отходов и вторичного сырья.

Упрощенная блок-схема биотехнологической линии представлена на рис. 1.

Так как экономика РФ является открытой, то сами технологии и производимые ингредиенты (добавки, БАВы) должны быть конкурентоспособными на мировом рынке по критерию цена-качество. Для этого должны применяться высокопродуктивные (высокоактивные) штаммы-продуценты, недорогие и доступные субстраты, совершенные биореакторы, оптимальные технологии выделения и концентрирования целевых биопрепаратов и утилизации отходов с соответствующим оборудованием.

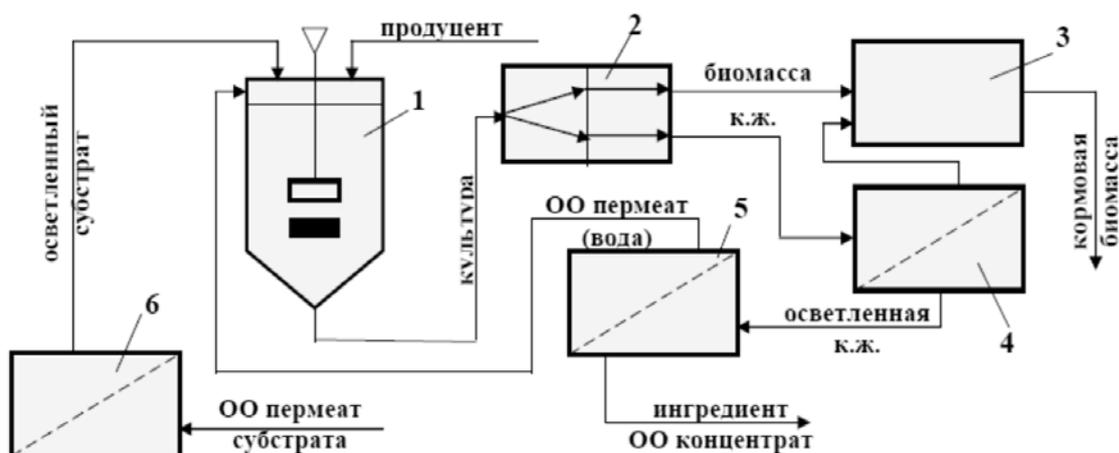


Рисунок 1 – Обобщенно – упрощенная блок-схема биотехнологической линии: 1 – биореактор, 2 – центрифуга (фильтр); 3 – сушилка; 4, 5 и 6 – ультрафильтрационная и две обратноосмотические установки

Основные подходы и методики селекции высокоэффективных (оптимальных) штаммов-продуцентов различных биологически активных соединений с помощью индуцированного мутагенеза, генетического конструирования (генной инженерии) и др. современных методов разработанных на основе фундаментальных исследований изложены в источнике [1]. Использование таких штаммов является определяющим фактором себестоимости производства соответствующей биотехнологической продукции. При этом основным фактором ее снижения как показано ниже (особенно для аэробных процессов) является скорость роста биомассы и / или биосинтеза целевых БАВ.

Значительную часть (до 25 % и более) в себестоимости продуктов биосинтеза (особенно синтезируемых в анаэробных условиях) составляют затраты на питательные среды (субстраты). С целью их сокращения стремятся использовать недорогое растительное и вторичное сырье: гидролизаты зерна и растительной биомассы; отходы пищевой, целлюлозно-бумажной, химической и нефтяной промышленности. Для биосинтеза пищевых добавок и ингредиентов обычно используются: мелассная, ацетоно-бутиловая и зерновая барда, кукурузный экстракт, гидролат, молочная сыворотка, крахмал, меласса, пивная дробина, кукурузная и соевая мука, отруби, картофельные сок и мезга и др. вторичное сырье АПК [2–4]. Оптимальный состав субстратов должен удовлетворять физиологические потребности соответствующего продуцента, что достигается теоретическими и экспериментальными исследованиями с использованием математического метода планирования эксперимента.

Факторами подлежащими оптимизации определяющими скорость роста и биосинтетическую активность продуцентов также являются: концентрация биопродуктов, активаторов и ингибиторов, рН, температура, осмотическое давление, вязкость, содержание кислорода и углекислого газа. Нахождение оптимальных параметров микробиосинтеза представляет собой достаточно сложную задачу решаемую с применением как экспериментальных так и теоретических исследований [5–7].

Значительную долю (до 40 %) в себестоимости производства ингредиентов с помощью микробиосинтеза в аэробных условиях составляют затраты на стадию культивирования, прежде всего на подготовку, сжатие и подачу воздуха в биореакторы. Растворимость кислорода в среде сравнительно низка и зависит от температуры, давления и от концентрации растворенных, эмульгированных и диспергированных компонентов.

Обобщенные расчетным путем экспериментальные данные затрат электроэнергии на сжатие воздуха подаваемого в биореакторы барботажного типа представлены на рис. 2. При этом обычно для аэробных процессов требуется подавать один нм^3 воздуха / м^3 объема субстрата в минуту. Тогда в сутки для биореактора с объемом субстрата 36 м^3 при подаче сжатого воздуха с давлением 0,3 МПа при КПД = 0,8 потребуется затратить электроэнергию в количестве 3888 кВт· час/ сут ($0,06 \cdot 36 \cdot 60 \cdot 24 \cdot 0,8$) на общую сумму 19 440 руб./сут при цене 5 руб. / кВт· час.

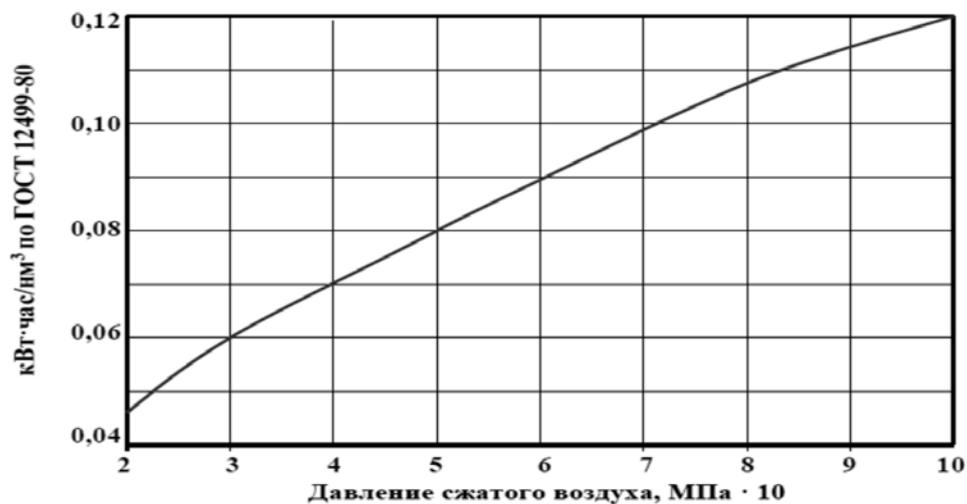


Рисунок 2 – Затраты электроэнергии на сжатие 1 м³ воздуха

Анализ показывает, что для сокращения этих значительных затрат необходимо сокращать время культивирования. Отсюда следует необходимость использования штаммов с высокой скоростью роста и биосинтеза целевых БАВ.

Кроме того, данные швейцарской компании Bioengineering AG приведенные в табл. 1 показывают целесообразность оснащения биореакторов высокоскоростными мешалками.

Таблица 1 – Скорость абсорбции кислорода в воде (мг / (л×мин)) в зависимости от аэрации и перемешивания среды

Количество подаваемого воздуха, м³/(м³ мин)	Частота вращения мешалки, мин ⁻¹				
	0	500	800	1000	2000
0,35	1,3 мг / (л×мин)	4,0	7,5	14,5	15,1
0,65	3,5	7,3	12,1	19,1	22,1
1,00	6,0	10,0	15,0	23,0	24,0
1,30	7,5	13,9	18,0	26,0	28,0
1,60	11,0	15,5	20,0	27,0	29,0

Данные этой же компании приведенные в табл. 2 показывают – адсорбция кислорода в водных растворах (субстрате) зависит от содержания растворенных веществ (на примере сахарозы), пеногасителей (на примере подсолнечного масла), а также от количества биомассы штамма-продуцента и взвешенных веществ.

Видно, что микробиосинтез следует проводить на субстратах не содержащих взвешенные вещества, для удаления которых в биотехнологической линии рис. 1 предусмотрена мембранная установка поз. 6. Иначе придется увеличивать подачу сжатого воздуха и его давление с соответствующим значительным (в разы) повышением энергозатрат (см. рис. 2). При этом следует учитывать, что на разных стадиях микробиосинтеза необходимо поддерживать в биореакторах различную концентрацию растворенного кислорода. Так, во время роста микроорганизмы обычно потребляют кислорода больше, чем во время биосинтеза целевого метаболита. Оптимальной для роста биомассы считается концентрация кислорода 50...60 % от полного насыщения, а для биосинтеза целевых метаболитов – 10...20 %.

Основной стадией производства БАВ является и стадия их выделения из культуры с последующей очисткой, концентрированием и сушкой. Оптимальными методами для этого являются баромембранные процессы (БМП): микрофльтрация (МФ), ультрафльтрация (УФ), нанофльтрация (НФ) и обратный осмос (ОО). Сферы их применения приведены в табл. 3.

Таблица 2 – Абсорбция (растворимость) кислорода в воде (мг/л) в зависимости от концентрации диспергированных компонентов при 20 °С

Сахароза		Подсолнечное масло		Взвешенные в-ва. Биомасса	
концентрация, %	абсорбция O ₂ , (мг/л)	концентрация, %	абсорбция O ₂ , (мг/л)	концентрация, %	абсорбция O ₂ , (мг/л)
0	8,2	0	8,9	0	8,0
2,5	7,8	0,05	11,6	3,0	4,1
5,0	7,2	0,10	18,9	6,0	2,4
7,5	6,6	0,15	19,0	9,6	1,5
10,0	5,9	0,20	22,3	16,0	1,2
15,0	4,8	0,25	24,0	32,0	0,8

Таблица 3 – Основные характеристики и назначение баромембранных процессов

Баромембранный процесс (БМП)	Диаметр пор, мкм	Рабочее давление, МПа	Основное назначение
Микрофильтрация (МФ)	0,1–1,0	0,1–0,3	Холодная стерилизация; удаление взвесей, коллоидов
Ультрафильтрация (УФ)	0,01–0,1	0,3–1,0	Концентрирование высокомолекулярных БАВ (ингредиентов)
Нанофильтрация (НФ)	0,0001–0,1	1,0–1,5	Разделение и концентрирование солей и органических веществ
Обратный осмос (ОО)	>0,0001 плотные	> π 1,5–10,0	Концентрирование низкомолекулярной органики и БАВ

Применение БМП по сравнению с другими традиционными процессами удаления влаги (выпариванием, сушкой и вымораживанием) обеспечивает значительное сокращение энергозатрат (см. табл. 4). Процессы же центрифугирования, фильтрования и флотации не позволяют выделять (разделять) растворенные вещества с различной молекулярной массой.

В последние годы начинают широко применяться мембранные биореакторы (МБР). Они основаны на оптимальном сочетании биореакторов (ферментеров, дрожжегенераторов, аэротенков, метантенков) с мембранными модулями (ММ) и / или с мембранными установками (МУ).

В МБР биосинтез протекают одновременно с выделением (разделением) его продуктов с помощью мембран. МБР выгодно отличаются как от систем с иммобилизованными катализаторами, ферментами и микроорганизмами так и от биореакторов для глубинного культивирования микроорганизмов и гидролиза (ферментализа, автолиза) высокомолекулярных соединений, дрожжей и др. микроорганизмов. От первых – тем, что ферменты (катализаторы, продуценты) находятся в растворе и биохимические реакции не лимитируются медленно протекающей диффузией, а от вторых – возможностью смещения биосинтеза или гидролиза в сторону образования целевых продуктов.

Это происходит в соответствии с одним из основных законов химической термодинамики (принципом смещения равновесия Ле-Шателье – Брауна) – удаление продукта из зоны реакции сдвигает равновесие в сторону его образования.

Таблица 4 – Энергозатраты при разделении, очистке и концентрировании растворов БАВ

Процессы разделения и концентрирования (удаления влаги)	Энергозатраты, МДж/м ³
Баромембранные процессы: – теоретическое значение при давлении 5 МПа при однонаправленном потоке в тупик (dead-end flow);	4,9
– достигаемые на современных рулонных ОО – и НФ установках в проточном режиме (cross flow);	15...25
– характерные для современных УФ – НФ – и МФ установок в режиме cross flow с высокой тангенциальной скоростью в межмембранных каналах	100...150
Вакуум-выпаривание в 4-х корпусной установке	570
Сушка	2300
Вымораживание	340
Центрифугирование. Флотация	13
Фильтрование на вакуумных фильтрах	35...45

ММ или МУ в составе МБР создают предпосылки и возможности:

– увеличения концентрации продуктов биосинтеза и степени биоконверсии сырья, теоретически до 100 %;

– уменьшения объемов биореакторов за счет увеличения скорости биокатализа путем постоянного и непрерывного обновления питательной среды и вывода целевых продуктов и метаболитов, а также повышения концентрации продуцентов или ферментов.

Отечественные мембранные элементы выпускаемые ЗАО «НТЦ Владипор», ООО «Керамикфильтр» и ОАО «РМ Нанотех» отвечают требованиям биотехнологических производств.

Работа выполнена в рамках Программы Фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2019–2021 годы (тема № 0529–2019–0066).

ЛИТЕРАТУРА

1. Храмцова Е.А. Селекция продуцентов: курс лекций – Минск: БГУ, 2011. – 132 с.
2. Сырье для промышленной биотехнологии. URL: <http://www.helpiks.org/9–25743.html>
3. Кудряшов В.Л. Производство и использование жидкого ультраконцентрата из барды // Ликероводочное производство и виноделие. – 2012. – № 11 – 12 – С. 18–20.
4. Борцова Ю.А. Перспективы использования отходов агропромышленного комплекса (АПК) для культивирования мутантного штамма ASPERGILLUS FOETIDUS – продуцента комплекса гидролаз // Заметки ученого. – 2015. – № 3. – С. 21–25.
5. Дербышев В.В. Новая методология оптимизации производства продуктов микробиологического синтеза // Интернет-журнал о коммерческих биотехнологиях. СBio.ru. 2006. URL: <http://www.cbio.ru/page/43/id/2816/>
6. Оптимизация биотехнологических процессов микробиологического синтеза // URL: http://www.ohrana-bgd.ru/mikbio/mikbio2_06.html
7. Гордеева Ю.Л. Оптимизация непрерывных процессов микробиологического синтеза с нелинейной кинетикой роста микроорганизмов // Теоретические основы химической технологии. – 2015. – № 6. – С. 651–658.
8. Кудряшов В.Л. Мембранный биореактор – новое гибридное оборудование для производства пищевых БАВ, биопрепаратов и очистки стоков // Пищевая пром-сть. – 2018. – № 1. – С. 14–18.