

Изобретение относится к новой аминокислотной кормовой добавке для животных с высоким содержанием одной аминокислоты, способу ее получения, а также ее применению.

В корм для животных вводят добавки в виде отдельных аминокислот в соответствии с потребностями животных. Наряду с полученным химическим способом метионином, добавляют, в частности, ферментационно полученные аминокислоты: лизин, треонин и триптофан. Так, например, у свиней минимальное соотношение этих трех аминокислот, обнаруженное в навозной жиже, установленное для оптимального использования корма, составляет: лизин : треонин : триптофан = 100% : 65% : 18%, если лизин принять за 100% (см. T.C. Wang, M. Fuller, British Journal of Nutrition, 62, 77 - 89 (1989)).

В качестве кормовых добавок, например, содержащих L-лизин, до настоящего времени используют преимущественно моногидрохлорид L-лизина с содержанием L-лизина, которое равно 80%. Поскольку L-лизин получают посредством ферментации, то для получения моногидрохлорида его необходимо отделить по крайней мере один раз от всех прочих компонентов сырого ферментационного бульона, используя для этого дорогостоящие технологические процессы, после чего преобразовать его в моногидрохлорид и довести до кристаллизации.

Поэтому в прошлом предпринимались многочисленные попытки избежать дорогостоящего способа получения кормовых аминокислот, особенно чистого монохлорида L-лизина и внести сырой ферментационный бульон в твердый корм для животных более экономичным способом. Однако, все эти попытки не привели к экономически приемлемому результату. Простое обезвоживание сырого ферментационного бульона в результате привело к получению сильно гигроскопичного и клейкого концентрата, который в такой форме не мог быть использован как кормовое средство для животных. Для получения сыпучего и стабильного при хранении продукта в этот концентрат нужно было подмешивать большое количество различных добавок. В результате во многих случаях и без того уже относительно небольшое содержание аминокислот снижалось еще больше.

Наиболее близким по технической сущности и достигаемому результату является способ и кормовая добавка, описанные в Европейском патенте EP-B-122163. Согласно известному способу, при соблюдении особых условий ферментации, можно получить сырой исходный ферментационный бульон, который можно высушивать до получения твердого и стабильного продукта. Этот продукт получают в результате обезвоживания всего исходного ферментационного бульона. Однако, содержание L-лизина в нем составляет лишь 35-48 вес.%, что составляет значительно меньше содержания моногидрохлорида L-лизина. Оставшаяся в продукте биомасса действует при этом как добавка для улучшения сыпучести.

В основу настоящего изобретения поставлена задача – создать кормовую добавку для животных, которая содержала бы по меньшей мере одну аминокислоту, концентрация которой была бы высокой, а содержание побочных продуктов было бы небольшим. Такая добавка должна быть дешевой в изготовлении, и как конечный продукт не должна быть чрезмерно гигроскопичной или клейкой. Кроме того, содержание аминокислоты должно быть стандартизовано при помощи простых средств.

Поставленная задача по объекту "вещество" решается тем, что аминокислотная кормовая добавка для животных на основе ферментационного бульона для животных, согласно изобретению, получена путем сушки распылением ферментационного бульона, причем сухой остаток ее имеет следующий состав, вес. %:

аминокислота(ы) .....	40-90
белки, макс. ....	10
карбоновые кислоты, содержащие:	
менее 8 атомов углерода, макс. ....	8
сахар в целом, макс. ....	10
жиры и масла, макс. ....	5
минеральные вещества .....	3-30

Кроме того, содержание воды в кормовой добавке составляет от 0,5 до 5 вес.%. Кроме того, добавка в сухой массе содержит до 10 вес.% ферментационной биомассы.

Кроме того, содержание полученной ферментацией аминокислоты (т) составляет по меньшей мере 49,5 вес.%.

Кроме того, содержание полученной ферментацией аминокислоты составляет до 60 вес.% в случае основной аминокислоты или 85% в случае нейтральных аминокислот.

Задачей изобретения по объекту "способ" является разработка экономичного способа получения кормовой добавки для животных, которая содержала бы по меньшей мере одну аминокислоту, концентрация которой была бы высокой, а содержание побочных продуктов было бы небольшим.

Поставленная задача по объекту «способ» достигается тем, что в способе получения аминокислотной кормовой добавки на основе ферментационного бульона для животных, включающем ферментацию бульона с последующим высушиванием до твердого и стабильного продукта, согласно изобретению, культивируют микроорганизм, продуцирующий по меньшей мере одну  $\alpha$ -аминокислоту, в ферментационной среде, которая содержит по меньшей мере один источник углерода, по меньшей мере один источник азота, минеральные соли и микроэлементы, а ферментацию осуществляют таким образом, что при ее завершении получают сырой ферментационный бульон с максимальным содержанием сахара 4 г/л, после чего по меньшей мере уменьшают содержание микроорганизмов до максимального уровня 10 вес.% в сухой массе, таким образом, что аминокислотную кормовую добавку можно непосредственно выделить из ферментационного бульона путем сушки распылением.

Кроме того, частично уменьшают количество микроорганизмов, образующих биомассу, до максимального уровня 10 вес.% в сухой массе посредством механического разделения.

Кроме того, ферментацию проводят таким образом, что при ее завершении получают сырой ферментационный бульон с максимальным содержанием используемого сахара 4 г/л и содержанием биомассы, которое ограничено таким образом, что сухая масса ферментационного бульона содержит максимум 10 вес.% белков, 40-90 вес.% аминокислоты (т), максимум 8 вес.% карбоновых кислот, содержащих менее 8 атомов углерода, максимум 10 вес.% сахара в целом, максимум 5 вес.% жиров и масел и от 3 до 30 вес.% минеральных веществ. Кроме того, сырой ферментационный бульон имеет конечное содержание твердых веществ от 7,5 до 26 вес.%. Кроме того, ферментационный бульон подвергают сушке до содержания воды меньше или равному 5 вес.%. Кроме того, ферментацию проводят таким образом, что при ее завершении сырой ферментационный бульон содержит от 1 до 20 вес.% аминокислоты (т).

Кроме того, на протяжении по меньшей мере 30% времени ферментации концентрацию сахара поддерживают на уровне максимум 0,3 вес.%.

Аминокислотная кормовая добавка для животных, согласно изобретению, содержит наряду с ферментационно полученной аминокислотой (аминокислотами) еще и преобладающую часть ингредиентов ферментационного бульона за исключением по меньшей мере одной части биомассы или механически отделяемых продуктов. Содержание аминокислоты (аминокислот) составляет преимущественно до 40 вес.% (в сухом веществе).

Кроме того, предложенная кормовая добавка для животных на основе аминокислотного ферментационного бульона может альтернативно или дополнительно иметь следующий состав сухой массы:

свободные аминокислоты .....	40-90 вес%
белки, макс. ....	10 вес%
карбоновые кислоты, содержащие:	
менее 8 атомов углерода, макс. ....	8 вес%
сахар в целом, макс. ....	10 вес%
жиры и масла, макс. ....	5 вес%,
минеральные вещества .....	3-30 вес%

Этот продукт содержит в частности еще преобладающую часть компонентов ферментационного бульона, в случае необходимости, за исключением одной части биомассы для отделяемых механическим способом продуктов.

Обычно этот продукт содержит остаточную воду в количестве минимально 0,5 вес.% для того, чтобы устранить комкование, однако содержание воды не должно превышать 5 вес.%.

Содержание белка определяют из содержания общего азота – минус содержание органического азота свободных аминокислот с умножением полученной величины на 6,25 (общий N% – неорганический N% x 6,25).

Содержание общего азота определяют растворением по Къельдалю (стандартный метод), содержание неорганического азота (содержание аммония), например, определяют методом колориметрии или потенциометрии, содержание азота свободной аминокислоты определяют путем установления количества свободной аминокислоты (аминокислотный анализатор (ASA)) с последующим расчетом содержания N. Термин "минеральные вещества" обозначает совокупность всех неорганических катионов и анионов.

Основные аминокислоты представляют собой соли и, следовательно, отличаются более высоким минимальным содержанием минеральных веществ (как правило минимум 10%) и более низким максимальным содержанием свободной аминокислоты (как правило макс. 72%, в частности макс. 67%). Максимальное значение определяют с помощью аниона (например,  $\text{SO}_4^{2-}$ ;  $\text{Cl}^-$ ), при этом верхнее значение для основных аминокислот устанавливают до 90% от теоретического содержания основания свободной аминокислоты в соли (например,  $(\text{Lys})_2 \times \text{H}_2\text{SO}_4$  содержит макс.  $75 \times 0,9 = 67,5$  вес.% лизина). Это содержание зависит, кроме того, от используемых микроорганизмов и ферментационных сред.

Высокое содержание аминокислот до макс. 90% в сухом веществе можно рассчитать, например, при получении треонина с помощью *Escherichia coli* BRIIM B-3996 (FR-A-2640640), в частности, вследствие применения относительно простых сред.

При получении лизина или триптофана с помощью *Corynebacterium glutamicum* или K12-производных *Escherichia coli*, содержание аминокислоты, как правило, несколько ниже, особенно у триптофана, причем ферментационно определяемое в данном случае максимальное содержание 70% является типичным.

Термин "на основе ферментационного бульона" означает, что по меньшей мере одна часть (преимущественно преобладающая часть) добавки – это сухая масса ферментационного бульона, за исключением удаляемых механическими способами веществ, которые могут быть удалены, что указано в формуле изобретения.

Удаляемые механическими способами вещества – это, в частности, биомасса и белки. К механическим способам отделения относятся, в частности, фильтрация (например, ультра- и микрофильтрация), сепарация (например, центрифугирование и декантация), причем с помощью этих способов отделяют в основном нерастворимые и/или высокомолекулярные вещества.

Таким образом, к данному изобретению относятся такие кормовые добавки, которые наряду с одной аминокислотой или несколькими аминокислотами содержат преобладающую часть ингредиентов ферментационного бульона, имеющих отношение к аминокислоте (аминокислотам), за исключением по меньшей мере части биомассы, а также такие кормовые добавки, которые соответствуют вышеуказанному составу, причем в этом случае биомасса полностью, частично или вовсе отсутствует. В частности, если по меньшей мере одна часть биомассы присутствует в добавке, то в качестве микроорганизмов используют преимущественно естественные микроорганизмы, то есть такие, которые не подвергались воздействию методов ген-

ной инженерии, или не подпадают под немецкий закон о генной инженерии.

Добавки, согласно изобретению, можно получать непосредственно, например, путем сушки распылением ферментационного бульона, в случае необходимости, с предварительным отделением от него по меньшей мере одной части биомассы. Неожиданным и особым преимуществом добавки является то, что добавки получают с низким содержанием белка по сравнению с известными до настоящего времени продуктами (из ферментационных бульонов), причем несмотря на это, их можно перерабатывать в пригодные для использования порошки или грануляты (высушенные).

Очень чистые (с обедненным содержанием органических веществ в осадке) ферментационные бульоны могут быть высушены до пригодного к применению продукта даже без биомассы и в основном без вспомогательных веществ, таких как дополнительные (минеральные) носители. Точно также, ферментационные бульоны, приготовленные заранее таким образом, чтобы они содержали лишь небольшое количество биомассы, могут быть непосредственно высушены до получения добавки (главным образом без применения вспомогательных веществ, таких как дополнительные (минеральные) носители). Оба способа обеспечивают получение добавки, согласно изобретению, с уменьшенным или небольшим содержанием белка. Известные продукты всегда содержат большие количества биомассы и, кроме того, значительные количества других носителей.

Содержание белка в добавке является очень важным параметром, оно не должно преимущественно превышать 10 вес.%, предпочтительно оно должно находиться ниже 10 вес.%, в частности, оно должно составлять макс. 7 вес.%. Особенно предпочтительным является содержание белка в добавке ниже 5 вес.%. По технологическим и экономическим причинам минимальное содержание белка в основном должно составлять 0,5 вес.%, как правило, около 1 вес.% и выше. Низкое содержание белка является в этом отношении важным параметром, так как содержание азота или белка в смешанном корме должно быть повышено по возможности ненамного. Снижение содержания N на 0,05% является уже значительным. С увеличением содержания белка в корме повышается потребность в добавке, что приводит к повышению содержания N в навозной жиже, снижается процентное содержание аминокислот в добавке, что, кроме того, приводит к возрастанию затрат на транспортировку в расчете на содержание добавки.

Навозная жидкость может, в частности, вызвать значительные проблемы, связанные с охраной окружающей среды. Высокое содержание белка, кроме того, необходимо учитывать при анализе на белок. Таким образом, в смешанный корм следует по возможности мало вносить бесполезного белка и белка неизвестного состава.

Обычно ферментационный бульон содержит свыше 10-20 вес.% биомассы в сухом веществе. Если содержание белка в кормовой добавке для животных становится слишком высоким, долю ферментационной биомассы в добавке снижают преимущественно до макс. 10 вес.% в сухом веществе. Часто содержание ферментационной биомассы находится в пределах около 5 вес.%. Предпочтительными являются также составы добавки, которые не содержат биомассы, т.е. такие составы, которые содержат макс. 0,1 вес.% биомассы.

В большинстве случаев в добавке представлена только одна аминокислота.

Такую добавку можно затем вводить в определенном количестве в соответствии с содержанием аминокислоты в любые кормы или премиксы. Также является целесообразным, когда в определенных кормовых смесях присутствуют несколько аминокислот в определенном соотношении с тем, чтобы аминокислотное обогащение достигалось при помощи лишь одной добавки. Такое соотношение аминокислот может быть получено в результате смешивания нескольких аминокислотных ферментационных бульонов или добавок (со всей или уменьшенной биомассой, или без биомассы), а также в результате добавления в небольших дозах чистой аминокислоты (например, Trp и/или Thr в лизиновую добавку).

В данном изобретении – это незаменимые аминокислоты, в частности, лизин, треонин, триптофан, а также лейцин, изолейцин, валин, пролин и аланин.

Наряду с отдельной аминокислотой или несколькими, введенными целенаправленно, или определенными аминокислотами в добавке в незначительном количестве могут содержаться другие не известные, или не пригодные для добавления аминокислоты.

Аминокислоты, которые определяют добавку, должны составлять по меньшей мере 95 вес.% общего количества свободных аминокислот в добавке, предпочтительно их минимальное количество составляет 97 вес.%. По технико-экономическим причинам нижний предел других, не известных аминокислот не декларируемых (не известных)  $\alpha$ -аминокислот в большинстве случаев составляет около 0,5 вес.%, обычно их содержание составляет по меньшей мере 1 вес.%. Эти другие аминокислоты имеют подобные недостатки, как, например, содержащие пептид, однако их легче определять при анализе общих аминокислот.

Суммарное содержание других  $\alpha$ -аминокислот и белков не должно находиться преимущественно выше 11 вес.%, обычно эти величины находятся ниже 11 вес.%, в частности 8 вес.% и ниже. Нижняя граница находится в этом случае обычно около 2 вес.%.

Указанные величины для белка и аминокислот, или их сумма, являются настолько незначительными, что их содержание при анализе белка/аминокислоты в корме с добавками можно не учитывать; более высокие значения при определенных обстоятельствах могут оказывать неблагоприятное воздействие на желаемый аминокислотный состав, который можно получить с помощью добавки.

Общее содержание сахара включает используемые и не используемые микроорганизмами сахара, предпочтительно оно находится около макс. 5 вес.%, особенно благоприятными являются величины порядка 2,5 вес.% и ниже, наиболее благоприятные величины находятся около макс. 1,5 вес.%. Чем выше содержание сахара, тем продукт может быть более гигроскопичным и иметь большую тенденцию к склеиванию. Кроме того, при более высоком содержании сахара в процессе выпаривания и сушки могут образовываться

ся продукты майяра, которые снижают выход и ухудшают свойства продукта. Содержание сахара может быть снижено за счет ограничения поступления сахара по меньшей мере в конце ферментации.

Содержание жиров и масел лучше соответствующим образом ограничивать обычно до 3 вес.%, как и в белках это содержание не должно быть высоким с тем, чтобы оно не принималось во внимание при введении добавок в комбикорм.

Для обогащения кормов особенно пригодными являются такие добавки, содержание желаемой (ых) аминокислоты (т) в которых составляет как минимум 49,5 вес.%, преимущественно эта величина составляет около 50 вес.% или выше. Верхняя граница по технико-экономическим причинам для основных аминокислот находится около макс. 60 вес.%, макс. величина 57 вес.% оказалась особенно приемлемой; для нейтральных аминокислот эти величины составляют 85 вес.% или 80 вес.% соответственно.

Добавки могут быть получены как посредством сушки распылением ферментационного бульона (при необходимости с уменьшенной биомассой), так и в виде смесей таких добавок (также бульонов), или с другими добавками, такими как премиксы, как например, микроэлемент – /витамин-премиксы или премиксы-минеральные вещества.

Такие добавки по сравнению с чистым кормом или по сравнению с существующими продуктами из ферментационных бульонов являются более дешевыми и отличаются высоким содержанием аминокислоты, их можно легко стандартизировать, они мало содержат побочных продуктов и затраты на их получение являются небольшими.

Описанный состав добавки является особенно пригодным для лизина, так как лизин легко доступен для получения его ферментационным способом и он представляет собой одну из важнейших добавочных аминокислот.

Кормовая добавка для животных, согласно изобретению, это порошок от светло-бежевого до коричнево-бежевого цвета с насыпной плотностью от 0,4 до 0,7 кг/л. В случае L-лизина он может быть в виде соли, например, сульфата или карбоната. Он полностью стабилен и после хранения свыше 12 месяцев при температуре 25°C в нем не отмечается уменьшение содержания L-лизина. Он имеет хорошую гигроскопичность.

Порошок имеет хорошую сыпучесть, не склонен к комкованию, его можно легко подмешивать к кормовым смесям для животных или премиксам. Как составная часть таких смесей он обладает отличной стабильностью. Как источник L-лизина он, в расчете на одинаковое содержание L-лизина, имеет по меньшей мере одинаковую эффективность, что и обычно применяемый моногидрохлорид L-лизина. Другим предметом данного изобретения является способ получения кормовых добавок для животных. Такой способ отличается тем, что культивируют микроорганизм, продуцирующий по меньшей мере одну аминокислоту, в ферментационной среде, содержащей как минимум один источник углерода, один источник азота, минеральные соли и микроэлементы, при этом ферментацию осуществляют таким образом, чтобы в конце ее получить сырой ферментационный бульон с содержанием используемого сахара макс. 4 г/л и в частности с содержанием твердого вещества от 7,5 до 26 вес.%, с содержанием аминокислоты порядка 1-20 вес.%, преимущественно от 4 до 10,5 вес.% и с содержанием сахара макс. 2,6 вес.%. Альтернативно при этом можно проводить ферментацию таким образом (в случае необходимости с применением соответствующего микроорганизма), чтобы содержание биомассы лимитировать так, чтобы сухая масса ферментационного бульона содержала бы макс. 10 вес.% белка и в частности 40-90 вес.% аминокислоты (аминокислот), макс. 8 вес.% карбоновых кислот с менее, чем 8 атомами углерода, макс. 10 вес.% общего сахара, макс. 5 вес.%, жира и масел и макс. 5-30 вес.% минеральных веществ, или преимущественно после завершения ферментации по крайней мере частично уменьшают биомассу в частности до макс. 10 вес.% в сухом веществе или удаляют микроорганизмы, образующие биомассу, и в случае необходимости другие вещества путем механических средств удаления и, оставляя преобладающие доли остаточных компонентов ферментационного бульона, преимущественно после завершения ферментации. Эти способы можно комбинировать друг с другом. Предпочтительно оставшийся бульон высушивают. Высушивание осуществляют благоприятным образом путем концентрирования оставшегося бульона до содержания твердого вещества от 40 до 60 вес.% и сушки этого вязкого бульона, например, путем сушки распылением. Если не нужно отделять биомассу, то ферментацию следует проводить таким образом, чтобы в результате получить по возможности мало биомассы, причем добавляемые питательные вещества в конце должны быть в значительной степени израсходованы. Такая ферментация описана, например, в патенте DE-A 4130867, пример 3.

Предпочтительно осуществлять ферментацию таким образом, чтобы свыше 30 вес.%, преимущественно более 70 % продолжительности периода ферментации концентрация используемого сахара в ферментационном рабочем растворе составляла бы максимально 0,3 вес.%.

Незадолго до конца ферментации содержание используемого сахара устанавливают на максимальном уровне 1 г/л, что означает, что сахар не добавляют, а ферментация прекращается лишь при достижении или сокращении этой величины. Обычно ферментационный осадок после удаления одной части биомассы высушивают до содержания воды по меньшей мере макс. 5 вес.%.

Биомассу можно предпочтительно полностью удалять, полученный конечный продукт имеет тогда особенно высокое содержание основания лизина или других аминокислот. Кроме того, продукт, полученный путем полного удаления биомассы, особенно пригоден для стандартизации конечного продукта до постоянного содержания аминокислот. Это особенно необходимо в том случае, если в отдельных ферментационных циклах достигаются различные содержания аминокислот.

В качестве микроорганизмов, производящих аминокислоты, для лизина предпочтительно применяют соответствующие мутанты видов *Corynebacterium* или *Brevibacterium*, например, депонированный в Немецкой коллекции микроорганизмов под номером DSM 5715 свободно получаемый штамм. В качестве источника углерода

использует преимущественно крахмальные гидролизаты (глюкозы) или сахарозы. Небольшая часть может быть получена также из мелассы сахарной свеклы или сахарного тростника. Эта доля не должна превышать 5 вес.% источника общего углерода ( $\approx 10$  вес.% мелассы в источнике общего углерода).

Для треонина и триптофана используется предпочтительно соответствующие мутанты видов *Escherichia coli* BRIIM B-3996 (FR-A-2640640).

В качестве источника азота наряду с аммиаком или сульфатом аммония применяют в основном гидролизаты веществ, содержащих белок, как кукурузная глютенная мука, соевая мука или биомассы, полученной из предшествующего состава. Другие подходящие источники азота – это, например, маисовая вода или рыбный пептон.

Температуру в процессе ферментации целесообразно поддерживать на уровне 30–40°C, а величину pH ферментационной среды – 6,0–8,0. Продолжительность процесса ферментации обычно составляет макс. 100 часов.

После окончания процесса ферментации микроорганизмы могут быть умерщвлены термически или другим способом, например, путем добавления минеральной кислоты, например, серной кислоты. В случае необходимости после завершения процесса ферментации часть биомассы отделяют известными способами, например, сепарацией, декантацией, путем комбинирования сепарации и декантации, ультрафильтрацией или микрофильтрацией. Освобожденный от биомассы, по меньшей мере частично, бульон концентрируют, затем посредством известных способов, например в тонкопленочном выпарном аппарате или в выпарном аппарате или осадителе до предварительного концентрата с содержанием твердого вещества 40–60 вес.%. Для окончательного высушивания предварительного концентрата можно использовать, например, распылительную сушилку однократного вскипания или сушилку с псевдоожиженным слоем.

Отделенную биомассу можно простым способом гидролизовать с помощью серной кислоты, соляной кислоты, или подходящих ферментов. Полученный таким образом гидролизат можно успешно добавлять в ферментационную среду в качестве источника азота. В результате повторного использования биомассы обеспечивается экономия сырья.

Поскольку желательной является стандартизация кормовой добавки для животных, согласно изобретению, относительно содержания аминокислоты, особенно L-лизина, то это можно осуществить, например, путем соответствующего выбора количества оставшейся биомассы и/или соответствующего выделения предварительного концентрата из различных ферментационных бульонов. Эти предварительные концентраты являются особенно пригодными, если они не содержат больше биомассы, так как эти продукты являются гомогенными.

Соответствующим образом можно также смешивать растворы, не содержащие биомассу или с небольшим количеством биомассы с исходным бульоном для стандартизации. Другой возможностью является добавление незначительных количеств не вызывающих сомнения относительно их ценности кормовых добавок, например, пшеничных отрубей или муки из измельченных кукурузных початков. Возможно также и сочетание отдельных этапов друг с другом. Приведенные ниже примеры поясняют данное изобретение более подробно.

#### Пример 1

В ферментер с мешалкой и системой аэрации загружают 150 кг стерильного раствора следующего состава:

вода.....	130 л
глюкоза.....	12, 4 кг
гидролизат кукурузной клейковины	
сернокислый.....	9,0 кг
сульфат аммония.....	1,5 кг
минеральные соли	
микроэлементы.....	0,4 кг

и с помощью аммиачного раствора pH раствора устанавливают до величины 7,5.

В этот раствор при температуре 33–35°C добавляют 12 л прививаемой культуры *Corynebacterium*, выращенной в такой же ферментационной среде, но в отдельном ферментере.

В течение 40 часов добавляют 77 л стерильного раствора, который перед нейтрализацией до pH 7,5 имел следующий состав:

вода.....	38 л
глюкоза.....	40,0 кг
гидролизат кукурузной клейковины	
сернокислый.....	8,3 кг
сульфат аммония.....	0,9 кг
пеногаситель (Naico®).....	0,08 кг
минеральные соли	
микроэлементы.....	0,2 кг

В течение всего периода ферментации величину pH поддерживают с помощью аммиачного раствора на уровне 7,0–7,5. Число оборотов мешалки устанавливают 600 об./мин, а скорость аэрации – до 0,5–0,7 vvm.

В конце периода ферментации были получены 275 кг сырого ферментационного бульона с содержа-

ем твердого вещества 34,1 кг, содержанием L-лизинового основания 15,5 кг и содержанием сахара 0,71 кг. Микроорганизмы были умерщвлены термическим способом и отделены путем комбинированной обработки в сепараторе и отстойнике. Бульон с удаленной биомассой подвергают концентрированию в осадителе при пониженном давлении до содержания твердого вещества примерно 52 вес. %.

Полученный таким образом предварительный концентрат затем обезвоживают в распылительной сушилке до получения порошка светлорычно-бежевого цвета с насыпным весом 0,51 кг/л следующего состава:

L-лизиновое основание .....	52,1 вес. %
другие $\alpha$ -аминокислоты .....	2,5 вес. %
белки .....	8,8 вес. %
карбоновые кислоты, содержащие:	
менее 8 атомов углерода .....	6,8 вес. %
сахар .....	2,4 вес. %
жиры и масла .....	2,5 вес. %
минеральные вещества .....	21,1 вес. %
вода .....	1,6 вес. %

### Пример 2

Ферментацию осуществляют, как в Примере 1, с той разницей, что вместо чистого сернокислого гидролизата кукурузной клейковины используют смесь, состоящую из 3,5 кг сернокислого гидролизата кукурузной клейковины и 13,8 кг сернокислого гидролизата Примера 1 отдельной биомассы.

В конце периода ферментации было получено 272 кг сырого ферментационного бульона с содержанием твердого вещества 36,2 кг., содержанием L-лизинового основания 17,1 кг и содержанием сахара порядка 0,55 кг.

Биомассу отделяли без предварительной обработки путем ультрафильтрации ( $\leq 300\ 000$  дальтон). Бульон, не содержащий биомассы, подвергали концентрированию как описано в Примере 1, до содержания твердого вещества около 53 вес. %. Затем часть этого предварительного концентрата обезвоживали в сушилке с псевдоожиженным слоем до получения порошка светло-коричнево-бежевого цвета с насыпным весом 0,53 кг/л следующего состава:

L-лизиновое основание .....	62,1 вес. %
другие $\alpha$ -аминокислоты .....	1,2 вес. %
белки .....	2,6 вес. %
карбоновые кислоты, содержащие	
менее 8 атомов углерода .....	3,1 вес. %
сахар .....	2,0 вес. %
жиры и масла .....	1,7 вес. %
минеральные вещества .....	24,4 вес. %
вода .....	1,6 вес. %

Другую часть предварительного концентрата разбавляли перед обезвоживанием в сушилке с псевдоожиженным слоем таким количеством муки кукурузных початков, чтобы полученный твердый продукт имел стандартизованное содержание

L-лизинового основания 60 вес. %.

### Пример 3

В ферментер с мешалкой и системой аэрации загружают 150 кг стерильного раствора следующего состава:

вода .....	133,0 кг
меласса .....	0,77 кг
сахароза .....	3,68 кг
гидролизат кукурузной клейковины	
сернокислый .....	1,03 кг
гидролизат биомассы сернокислый .....	9,4 кг
сульфат аммония .....	1,3 кг
минеральные соли	
микроэлементы .....	0,4 кг

и с помощью аммиачного раствора pH раствора устанавливают до величины 7,5.

В этот раствор при температуре 33-35°C добавляют 17,6 л привитой культуры *Corynebacterium*, выращенной в такой же ферментационной среде, но в отдельном ферментере, и зарегистрированной под номером штамма DSM 5715. Этот штамм можно получить в Немецкой коллекции микроорганизмов.

В течение 39 часов добавляют 78 л стерильного раствора, который перед нейтрализацией до pH 7,5 имел следующий состав:

вода .....	36 кг
меласса .....	2,7 кг
сахароза .....	43,1 кг

гидролизат кукурузной клейковины  
сернокислый..... 1,1 кг  
гидролизат биомассы сернокислый..... 10,7 кг  
сульфат аммония..... 0,9 кг  
минеральные соли микроэлементы..... 0,2 кг

В течение всего периода ферментации величину pH поддерживают на уровне 7,0-7,5 с помощью аммиачного раствора. Число оборотов мешалки устанавливают до 800 об/мин, а скорость аэрации – до 0,5-0,7 vvm.

В конце периода ферментации было получено 218 кг сырого ферментационного раствора с содержанием твердого вещества 29,2 кг, содержанием L-лизинового основания 10,6 и содержанием сахара 1,4 кг. Микроорганизмы были умерщвлены термическим способом и отделены путем комбинированной обработки в сепараторе и отстойнике.

Бульон, не содержащий биомассы, подвергали концентрированию в выпарном аппарате при пониженном давлении до содержания твердого вещества примерно 52 вес.%. Затем этот предварительный концентрат обезвоживают в распылительной сушилке до получения порошка светло-коричневого цвета с насыщенным весом 0.50 кг/л следующего состава:

L-лизиновое основание.....41,8 вес.%  
другие  $\alpha$ -аминокислоты ..... 4,1 вес.%  
белки ..... 8,5 вес.%  
карбоновые кислоты, содержащие:  
менее 8 атомов углерода..... 6,7 вес.%  
сахар ..... 5,7 вес.%  
жиры и масла ..... 2,8 вес.%  
минеральные соли .....25,6 вес.%  
вода..... 3,0 вес.%

#### Пример 4

В ферментер с мешалкой и системой аэрации загружают 6,6 кг стерильного раствора следующего состава:

вода..... 6,05 кг  
глюкоза..... 150 г  
сульфат аммония.....50 г  
минеральные соли  
микроэлементы ..... 50 т

и с помощью аммиачного раствора (25%) pH раствора устанавливают до величины 6,5.

В этот раствор при температуре 33°C добавляли 0,7 кг K12-производного привитой культуры *Escherichia coli*, выращенной в такой же ферментационной среде, но в отдельном ферментере.

В течение 24 часов дозированно добавляли 1,7 кг стерильного раствора следующего состава:

вода..... 0,6 кг  
глюкоза..... 1,1 кг

В течение всего периода ферментации величину pH поддерживают на уровне 6,5.

В конце периода ферментации объединяли несколько полученных таким образом ферментационных бульонов и биомассу отделяли посредством ультрафильтрации ( $\leq 300\ 000$  дальтон).

Бульон, не содержащий биомассу, обезвоживали в лиофилизаторе до получения порошка светло-коричневого цвета следующего состава:

L-триптофан.....46,0 вес.%  
другие  $\alpha$ -аминокислоты ..... 4,0 вес.%  
белки ..... 1,7 вес.%  
карбоновые кислоты, содержащие:  
менее 8 атомов углерода..... 3,0 вес.%  
сахар ..... 1,0 вес.%  
минеральные вещества .....25,0 вес.%  
вода..... 2,5 вес.%  
не указано .....17,0 вес.%

#### Пример 5

Треониновая кормовая добавка для животных может быть получена следующим образом.

Аналогично, как описано в патенте Франции FR-A-2640640 путем культивирования штамма *Escherichia coli* VKIIM в ферментационной среде был получен ферментационный бульон, содержащий 85 г/л L-треонина.

Затем биомассу отделяли из измененного методом генной инженерии микроорганизма с помощью ультрафильтрации, а бульон, не содержащий биомассы, подвергали обезвоживанию в подходящей сушилке.

---

Тираж 50 екз.

ДП «Український інститут промислової власності» (Укрпатент)

Україна, 01133, м. Київ-133, бул. Л. Українки, 26

(044) 295 – 81 – 42

(044) 295 – 61 - 97

---