

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **038913**

(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2021.11.09

(21) Номер заявки
201990205

(22) Дата подачи заявки
2017.06.27

(51) Int. Cl. **C12P 1/02** (2006.01)
A23J 3/14 (2006.01)
A61K 36/48 (2006.01)
C12P 7/10 (2006.01)
A23K 10/12 (2016.01)
A23K 10/38 (2016.01)
A23L 33/185 (2016.01)

(54) СПОСОБ ОДНОВРЕМЕННОГО ПОЛУЧЕНИЯ ЭТАНОЛА И ФЕРМЕНТИРОВАННОГО ТВЕРДОГО ПРОДУКТА ПРЕВРАЩЕНИЯ СУБСТРАТА

(31) **16178170.3**

(32) **2016.07.06**

(33) **EP**

(43) **2019.07.31**

(86) **PCT/EP2017/065781**

(87) **WO 2018/007196 2018.01.11**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ХАМЛЕТ ПРОТЕИН А/С (DK)

(56) **WO-A1-2013050456**
WO-A1-2006102907

TISSEYRE B. ET AL.: "CONCEPTION AND CHARACTERIZATION OF A CONTINUOUS PLUG FLOW BIOREACTOR" BIOPROCESS ENGINEERING, SPRINGER VERLAG, DE, vol. 13, no. 3, 1 January 1995 (1995-01-01), pages 113-118, XP008066218, ISSN: 0178-515X the whole document US-A-4735724

(72) Изобретатель:
**Эллегор Катрине Вид, Диков
Джонатан Аренс, Петерсен Стиг
Виктор, Тируп Лайла, Гелефф Свенн
Андреас (DK)**

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) Изобретение относится к способу одновременного получения твердого продукта превращения субстрата и неочищенного этанола, включающему следующие стадии: приготовление субстрата из молотой или плющенной в хлопья биомассы, содержащей белковый материал, происходящий из соевых бобов, семян рапса или их смеси, факультативно дополнительно смешанный с белковым материалом, происходящим из кормовых бобов, гороха, подсолнечника, люпина, злаковых и/или трав; смешение указанного субстрата с живыми дрожжами в отношении от 1:1 до 10000:1 и добавление воды в количестве, которое обеспечивает отношение объемной плотности полученной смеси во влажном состоянии к объемной плотности в сухом состоянии от 0,60 до 1,45; инкубация указанной смеси в течение 1-48 ч при температуре примерно 20-60°C и выделение неочищенного этанола и влажного твердого продукта превращения из указанной смеси; причем способ предусматривает также, что указанная инкубация реализуется как непрерывный процесс идеального вытеснения в вертикальном закрытом резервуаре без перемешивания, содержащем средства для ввода указанной смеси и добавок и средства для выпуска указанного твердого продукта превращения и неочищенного этанола. Кроме того, изобретение относится к продуктам, полученным этим способом, а также к их применению.

038913
B1

038913
B1

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к способу инкубации твердого субстрата для одновременного получения ценного твердого продукта превращения субстрата и неочищенного этанола в непрерывном процессе идеального вытеснения в вертикальном закрытом резервуаре без перемешивания, в котором перенос обеспечивается силой тяжести.

Кроме того, изобретение относится к продуктам, получаемым указанным способом, а также к их применению.

Уровень техники

Существует потребность в биологических продуктах, которые могут использоваться главным образом как пища или корм или как ингредиенты пищи или корма. Основными компонентами таких продуктов являются белки, жиры и углеводы. Подходящими биомассами для таких продуктов являются содержащие масла зерновые, такие как масличное семя, злаки и бобовые. Злаки имеют содержание белка в пересчете на сухое вещество до 15%, например, в пшенице, а бобовые имеют содержание белка до 40%, например, в соевых бобах.

Общей проблемой, связанной, в частности, со стручками, плодами и семенами бобовых, является присутствие неусваиваемых олигосахаридов, таких как стахиоза и раффиноза, вызывающих метеоризм и диарею при ферментации в толстой кишке.

Существует также потребность в разработке устойчивых источников энергии, и биоэтанол является привлекательным в качестве источника для топлива, например, для транспортных средств. Таким образом, существует потребность в способе, который мог бы производить биоэтанол при низких затратах.

Низкозатратными способами, известными в данной области техники, являются способы ферментации твердого субстрата или твердофазной ферментации (SSF), осуществляемые при низком содержании воды. Способ состоит в инокуляции твердого влажного субстрата подходящими микроорганизмами и выдерживании в условиях контролируемой температуры в течение некоторого периода времени.

Обычно субстрат культивируют в периодическом режиме на планшетах без перемешивания; один пример такого способа известен как процесс Кодзи. Периодические процессы осуществляют также с применением перемешивающих устройств.

В литературе описаны также непрерывные способы SSF с использованием следующих биореакторов: перемешиваемый резервуар, вращающийся барабан и трубчатые проточные реакторы. Одним примером трубчатого проточного реактора является реактор шнекового типа.

Заявка WO 2006/102907 A1, введенная в настоящий документ ссылкой, описывает способ получения белкового продукта из дрожжей и белковосодержащих частей стручков путем инкубации в анаэробных условиях при содержании воды не выше 80% с последующей инкубацией в закрытой системе.

Заявка WO 2013/050456, введенная в настоящий документ ссылкой, описывает способ одновременного получения неочищенного этанола и твердого продукта. Производство осуществляется в одном или более соединенных шнековых конвейерах как периодический процесс или как непрерывный процесс.

Патент US 4735724 описывает анаэробный ферментер в виде вертикальной башни без перемешивания и способ сбрасывания биоразлагаемой части сырья микроорганизмами, производящими метан. Этот способ отличается тем, что имеется отвод жидкости из центральной или нижней зоны в верхнюю часть башни.

Патент EP 2453004 B1 описывает способ анаэробной ферментации органического материала в закрытом резервуаре с подачей в резервуар сверху вниз под действием силы тяжести. Этот способ отличается тем, что ферментирующая масса перемешивается посредством поочередного повышения давления газообразного продукта и резкого сброса давления газообразного продукта.

Цель настоящего изобретения - предложить альтернативный способ получения неочищенного биоэтанола и одновременного получения ценного твердого продукта превращения.

Другой целью является разработка способа, который может быть осуществлен на реакторе большего размера, но более простой конструкции, чем конструкция реакторов известного уровня техники.

Еще одной целью является разработка альтернативного способа обработки биомассы на основе смесей биомасс, в частности соевых бобов или рапсового семени или их смесей.

Эти цели достигаются посредством способа по настоящему изобретению.

Сущность изобретения

Соответственно, в одном аспекте настоящее изобретение относится к способу одновременного получения твердого продукта превращения субстрата и неочищенного этанола, включающему следующие стадии:

приготовление субстрата из молотой или плющенной в хлопья биомассы, содержащей белковый материал, происходящий из соевых бобов, семян рапса или их смеси, факультативно дополнительно смешанной с белковым материалом, происходящим из кормовых бобов, гороха, подсолнечника, люпина, злаковых и/или трав;

смешение указанного субстрата с живыми дрожжами в отношении, рассчитанном на сухую массу, от 1:1 до 10000:1 и добавление воды в количестве, которое обеспечивает отношение объемной плотности полученной смеси во влажном состоянии к объемной плотности в сухом состоянии от 0,60 до 1,45;

инкубация указанной смеси в течение 1-48 ч при температуре примерно 20-60°C и выделение неочищенного этанола и влажного твердого продукта превращения из указанной смеси; причем способ предусматривает также, что указанная инкубация реализуется как непрерывный процесс идеального вытеснения в вертикальном закрытом резервуаре без перемешивания, содержащем средства для ввода указанной смеси и добавок и средства для выпуска указанного твердого продукта превращения и неочищенного этанола.

Предлагаемый способ обработки биомассы использует силу тяжести для транспортировки/перемещения биомассы в процессе инкубации. Хотя использование гравитации для перемещения, как правило, является идейно простым, оно требует тщательного выбора реакционных условий для конкретной цели, как, например, в данном процессе идеального вытеснения.

Обычно при повышении содержания воды инкубируемая смесь имеет тенденцию к уплотнению в результате уменьшения объема пустот, что негативно влияет на характеристики переноса. При достижении определенного содержания воды смесь уплотняется настолько, что ее перенос под действием силы тяжести прекращается. Материал будет прилипать к стенкам реактора, и однородное поршневое течение нарушается, что приводит к неравномерному времени пребывания биомассы в реакторе.

Кроме того, если инкубация проводится при повышенном давлении, что может иметь место под действием гравитации, реакция биомасса+дрожжи → твердый продукт превращения+EtOH+CO₂ обычно замедляется.

Предлагаемое настоящим изобретением решение проблемы, связанной с переносом инкубационной смеси под действием силы тяжести, состоит в применении для инкубации закрытого резервуара, какой определен в формуле изобретения, причем течение материала можно сохранить настолько высоким и однородным, что достигаются и поддерживаются условия идеального вытеснения. Скорость потока регулируется средствами впуска и выпуска, а также размерами (отношение ширины к высоте) резервуара.

Кроме того, решение, предлагаемое настоящим изобретением, должно обеспечить баланс содержания воды в инкубационной смеси таким образом, чтобы водная активность на поверхности частиц была достаточной для протекания процесса. Это достигается благодаря сохранению низкого отношения объемной плотности субстрата во влажном состоянии к объемной плотности в сухом состоянии, соответствующего определенным пределам, определенным в п.1 формулы изобретения. В этих условиях смесь действует как текучий порошок.

Более конкретно, авторы настоящего изобретения обнаружили, что необходимого однородного процесса можно достичь, если использовать субстрат/биомассу, имеющую отношение объемной плотности во влажном состоянии к объемной плотности в сухом состоянии от 0,60 до 1,45. В сочетании с предлагаемым изобретением вертикальной конструкцией для процесса идеального вытеснения можно обеспечить однородный поршневой режим потока и обеспечить одинаковое время обработки для продукта превращения. Наконец, способ по настоящему изобретению осуществляют без перемешивания. Это противоречит способам промышленного производства этанола согласно уровню техники, которые требуют перемешивания мешалкой, чтобы удерживать используемый организм в виде взвеси.

Вертикальная конструкция требует меньших инвестиций, чем горизонтальная, благодаря ее большей мощности на единственной производственной линии. Ее также дешевле обслуживать благодаря меньшим механическим перемещениям. Кроме того, использование резервуара без перемешивания способствует снижению эксплуатационных расходов.

Этим способом можно выделить более 98 вес.% полученного неочищенного этанола. Выход этанола зависит от содержания углеводов в питательной смеси и конверсии в сбраживаемые сахара. Исходя из обезжиренной сои, можно получить 4-5 вес.% этанола, тогда как из пшеницы можно получить около 20 вес.%.

Во втором аспекте изобретение относится к неочищенному этанолу, получаемому способом согласно изобретению и содержащему также небольшие количества примесей, полученных при инкубации указанной биомассы с указанными дрожжами, например другие спирты и простые эфиры.

В третьем аспекте изобретение относится к твердому продукту превращения субстрата, получаемому способом согласно изобретению, содержащему белки в количестве примерно 25-90 вес.% в пересчете на сухую массу, и, факультативно, глицерид в количестве примерно 0,05-30 вес.% в пересчете на сухую массу.

В четвертом аспекте изобретение относится к применению твердого продукта превращения по изобретению для потребления человеком и/или животным или в качестве ингредиента для использования в пищевом или кормовом продукте или в качестве ингредиента косметического или фармацевтического продукта или пищевой добавки.

В пятом аспекте изобретение относится к пищевому, кормовому, косметическому или фармацевтическому продукту или пищевой добавке, содержащему/ей от 1 до 99 вес.% твердого продукта превращения согласно изобретению.

Дефиниции.

В контексте настоящего изобретения, если в описании не указано иное, следующие термины должны означать следующее.

Термины "примерно", "около", "приблизительно" или "~" предназначены для указания, например, погрешности измерения, обычно встречающейся в данной области техники, которая по порядку величины может составлять, например, $\pm 1\%$, 2% , 5% , 10% , 20% или даже 50% .

Термин "содержащий" следует интерпретировать как определяющий присутствие указанных частей, стадий, признаков, составов, химических реагентов или компонентов, но не исключающий присутствия одного или более дополнительных частей, стадий, признаков, составов, химических реагентов или компонентов. Например, состав, содержащий одно химическое соединение, может тем самым содержать дополнительные химические соединения и т.д.

Процесс идеального вытеснения.

В непрерывном процессе этого типа реакционная смесь течет, например, через трубчатый или полнотрубчатый реактор с ограниченным противоточным смешением. Течение является ламинарным, при котором состав реакционной смеси изменяется вдоль осевого направления реактора, или однородным потоком массы.

Биомасса.

Биомасса содержит биологический материал, полученный в результате фотосинтеза, который можно использовать в качестве сырья в промышленном производстве. В этом контексте биомасса относится к растительному материалу в форме семян, злаков, стручков, трав, например бобов и гороха, и т.д., и их смесей, в частности плодов и семян бобовых. Кроме того, особенно хорошо подходит биомасса, содержащая стручки, благодаря содержанию в них белка и составу.

Инкубация.

Инкубация является процессом выращивания культур микроорганизмов на субстрате для конкретной цели, например выращивание дрожжей на углеводе для получения спирта.

Твердый продукт превращения субстрата.

Вообще говоря, обработку биомассы путем инкубации с микроорганизмами можно разделить на четыре типа:

получение биомассы - клеточный материал,

получение внеклеточных компонентов - химические соединения, метаболиты, ферменты,

получение внутриклеточных компонентов - ферменты и т.д.,

продукт превращения субстрата - продуктом является преобразованный субстрат.

В данном контексте твердый продукт превращения субстрата относится к продукту, полученному в результате инкубации выбранной биомассы с живыми дрожжами и, факультативно, ферментами.

Объемная плотность.

Плотность порошка определяют путем помещения фиксированного объема порошка в мерный стакан и определения веса или путем определения веса измеренного объема порошка. Этот опыт позволяет определить следующие характеристики:

объемная плотность (известная также как насыпная плотность) = масса/сухой объем без утряски, в г/мл или kg/m^3 ;

объемная плотность во влажном состоянии (известная также как суммарная плотность) = отношение полной массы ($M_s + M_l$) к ее полному объему, где M_s = масса твердой фазы, а M_l = масса жидкости.

Обычно объемную плотность определяют в соответствии с международными стандартами ISO 697 и ISO 60, но из-за природы веществ в контексте настоящего изобретения это не применимо. Отдельные использованные способы описаны в примерах.

Олигосахариды и полисахариды.

Олигосахарид представляет собой полимер сахара, содержащий по меньшей мере два мономерных звена сахаров. Полисахариды являются полимерами сахара, содержащими много мономерных звеньев сахаров, они известны также как сложные углеводы. Примеры включают запасные полисахариды, такие как крахмал, и структурные полисахариды, такие как целлюлоза.

Углеводы.

Углеводы включают моно-, ди-, олиго- и полисахариды.

Белковые материалы.

Белковые материалы включают органические соединения с высоким содержанием белков, полученных из аминокислот, находящихся в одной или нескольких цепях. При длине цепи до примерно 50 аминокислот соединение называют пептидом, при более высоком молекулярном весе органическое соединение называется полипептидом или белком.

Жиры.

Жиры включают сложные эфиры жирных кислот и глицерина. Одну молекулу глицерина можно этерифицировать с получением одной, двух или трех молекул жирной кислоты, приводящих к моноглицериду, диглицериду или триглицериду соответственно. Обычно жиры состоят в основном из триглицеридов и меньшего количества лецитинов, стеринов и т.д. Если жир является жидким при комнатной температуре, он обычно называется маслом. Что касается масел, жиров и соответствующих продуктов в этом контексте, можно сослаться на публикацию "Physical and Chemical Characteristics of Oils, Fats and Waxes", AOCS, 1996, а также на "Lipid Glossary 2", F.D. Gunstone, The Oily Press, 2004.

Глицериды.

Глицериды включают моно-, ди- и триглицериды.

Технологические добавки.

1. Ферменты.

Ферменты представляют собой очень широкий класс белковых веществ, способных действовать как катализаторы. Их принято разделять на шесть классов, и основными классами, подпадающие под объем настоящего изобретения, могут быть трансферазы, которые переносят функциональные группы, или гидролазы, которые гидролизуют различные связи. Типичные примеры включают протеазы, пептидазы, α -галактозидазы, амилазы, глюканазы, пектиназы, гемицеллюлазы, фитазы, липазы, фосфолипазы, трансферазы и оксидоредуктазы.

2. Растительные компоненты и органические агенты обработки.

Некоторые из функциональных свойств, важных в контексте настоящего изобретения, включают антиоксидантное, антибактериальное действие, смачивающую способность и стимулирование активности ферментов.

Список компонентов на растительной основе огромен, но наиболее важными являются следующие: розмарин, тимьян, орегано, флавоноиды, фенольные кислоты, сапонины и α - и β -кислоты хмеля, например α -лупулиновая кислота, для модулирования растворимых углеводов.

Кроме того, частью этой группы технологических добавок являются органические кислоты, например сорбиновая, пропионовая, молочная, лимонная и аскорбиновая кислота, а также их соли для регулирования значений pH, консервации и хелатообразующей способности.

3. Неорганические агенты обработки.

Сюда относятся неорганические композиции, которые могут оберегать от воздействия бактерий во время обработки, например бисульфит натрия и т.д. Агенты, предотвращающие слеживание и улучшающие реологические свойства конечного продукта, например алюмосиликат калия, и т.д.

Содержат неорганические кислоты, например соляную кислоту.

Обработанные пищевые продукты.

Сюда относятся молочные продукты, обработанные мясные продукты, сладости, десерты, мороженое, консервированные продукты, замороженная сухая пища, соусы, супы, полуфабрикаты, хлеб, пирожные и т.д.

Обработанные кормовые продукты.

Сюда относятся готовый к употреблению корм для животных, например, поросят, телят, домашней птицы, пушных зверей, овец, кошек, собак, рыбы, ракообразных и т.д.

Фармацевтические продукты.

Сюда относятся продукты типично в форме таблеток или в гранулированной форме, содержащие одно или более биологически активных веществ, предназначенных для лечения и/или облегчения симптомов болезни или состояния. Кроме того, фармацевтические продукты содержат фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества и/или носители. Описанные в настоящем документе твердые биопродукты очень хорошо подходят для применения в качестве фармацевтически приемлемых ингредиентов в таблетке или грануле.

Косметические продукты.

Сюда относятся продукты, предназначенные для личной гигиены, а также для улучшения внешнего вида, например кондиционеры и препараты для ванн.

Подробное описание изобретения

В первом варианте осуществления способа по изобретению по меньшей мере 20 вес.% биомассы, например по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80% или по меньшей мере 90 вес.% составляет белковый материал, происходящий из обезжиренных соевых хлопьев. Соевые хлопья могут быть также лущеными.

Во втором варианте осуществления способа по изобретению по меньшей мере 20 вес.% биомассы, например по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80% или по меньшей мере 90 вес.% составляет белковый материал, происходящий из обезжиренного рапсового семени.

В третьем варианте осуществления способа по изобретению биомасса содержит белковый материал, происходящий из обезжиренных соевых хлопьев, в количестве от 5 до 95 вес.% в смеси с белковым материалом, происходящим из обезжиренного рапсового семени, в количестве от 95 до 5 вес.%, факультативно дополнительно смешанный с белковым материалом, происходящим из кормовых бобов, гороха, семян подсолнечника и/или злаковых, в таком количестве, чтобы полное количество белкового материала составило 100 вес.%.

В любом из вариантов осуществления изобретения биомасса, содержащая белковый материал, может дополнительно содержать олигосахариды и/или полисахариды и/или, кроме того, содержит масла и жиры, например, из семян масличных растений.

В любом из вариантов осуществления изобретения твердый продукт превращения субстрата может

быть продуктом превращения белкового материала, олигосахаридов и/или полисахаридов, происходящих из указанной биомассы, например продуктом превращения стручков бобовых, таких, например, как соя, горох, люпин, подсолнечника и/или злаковых, например пшеницы или кукурузы, или семян масличных растений, например рапсового семени.

В любом из вышеописанных вариантов осуществления отношение сухих веществ биомассы к живым дрожжам составляет от примерно 1:1 до примерно 10000:1, например от примерно 2:1 до примерно 8000, например, 3:1, 5:1, 10:1, 15:1, 20:1, 30:1, 50:1, 70:1, 75:1, 85:1, 100:1, 200:1, 300:1, 500:1, 1000:1, 2000:1, 3000:1, 4000:1, 5000:1 или 7000:1.

В любом из вариантов осуществления изобретения воду добавляют в субстрат в таком количестве, чтобы обеспечить отношение объемной плотности субстрата во влажном состоянии к объемной плотности в сухом состоянии от примерно 0,60 до 1,45, например от примерно 0,65 до примерно 1,40, например, 0,70, 0,75, 0,80, 0,85, 0,90, 0,95, 1,00, 1,10, 1,15, 1,20, 1,25, 1,30 или 1,35.

В любом из вариантов осуществления изобретения по меньшей мере 40 вес.% биомассы, например по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80% или по меньшей мере 90 вес.% может составлять белковый материал, происходящий из обезжиренного рапсового семени, а воду можно добавить в субстрат в таком количестве, чтобы обеспечить отношение объемной плотности во влажном состоянии к объемной плотности в сухом состоянии от примерно 0,65 до примерно 1,10, например, 0,75, 0,80, 0,85, 0,90, 0,95, 1,00 или 1,05.

В любом из вариантов осуществления изобретения указанные дрожжи могут быть выбраны из штаммов *Saccharomyces cerevisiae*, включая использованные пивные дрожжи, использованные спиртовые дрожжи, хлебопекарные дрожжи и использованные дрожжи винного производства, а также из дрожжевых штаммов, сбраживающих C5-сахара.

В любом из вариантов осуществления изобретения в субстрат перед или во время инкубации можно добавить одну или более технологических добавок, выбранных из ферментов, растительных компонентов и органических и неорганических агентов обработки.

В любом из вариантов осуществления изобретения степень заполнения указанного закрытого инкубационного резервуара можно поддерживать постоянной. Это приведет к однородному течению.

В любом из вариантов осуществления изобретения в субстрат перед или во время инкубации можно добавить α -галактозидазу, например, препарат α -галактозидазы, имеющий активность примерно 5000 единиц α -галактозидазы на 1 г ферментного продукта добавляют в количестве в пересчете на сухую массу субстрата от примерно 0,001 до примерно 1 вес.%, например, в количестве 0,005, 0,01, 0,015, 0,02, 0,03, 0,05, 0,1, 0,5 или 0,75 вес.%.

В любом из вариантов осуществления изобретения инкубацию можно проводить в анаэробных условиях. Настоящее изобретение позволяет облегчить достижение анаэробных условий.

В любом из вариантов осуществления изобретения весовое содержание воды в инкубационной смеси может составлять от 35 до 70%, например 40%, 45%, 50%, 55%, 60% или 65%. Так, содержание воды в исходной смеси обычно не превышает 70 вес.% и может варьироваться, например, от 40 до 65%, от 45 до 60%, от 48 до 52% или от 50 до 55%, составляя, например, 49%, 50%, 51%, 52%, 53% или 54%.

В любом из вариантов осуществления изобретения смесь инкубируют 1-48 ч при 20-60°C, например 1-42 ч при 20-60°C, или 25-60°C, или 30-50°C, или 30-40°C, или 2-36 ч в одном из вышеуказанных температурных интервалов, или 3-24 ч в одном из вышеуказанных температурных интервалов, или 5-18 ч в одном из вышеуказанных температурных интервалов, или 8-15 ч в одном из вышеуказанных температурных интервалов, или 10-12 ч в одном из вышеуказанных температурных интервалов.

В любом из вариантов осуществления изобретения твердый продукт превращения субстрата может быть высушен, а затем (факультативно) размолот.

В любом из вариантов осуществления изобретения питательную смесь можно инкубировать в течение достаточного времени и при достаточной температуре, чтобы частично и, при желании, полностью инактивировать дрожжи, антипитательные факторы, а также ферменты, если таковые используются. Обычно более высокие температуры применяются на более короткий период, тогда как более низкие температуры применяются на большее время, чтобы инактивировать живые дрожжи, антипитательные факторы и ферменты.

В любом из вариантов осуществления изобретения неперемешиваемый закрытый инкубационный резервуар может быть вертикальным резервуаром вытянутого цилиндрического или полиэдрического типа. Преимущество использования этого типа конструкции заключается в том, что она занимает мало места, и так как перемешивание отсутствует, исключаются расходы на эксплуатацию и обслуживание смесительного оборудования.

В любом из вариантов осуществления изобретения площадь верхней части указанного неперемешиваемого закрытого инкубационного резервуара может быть меньше площади в нижней части, т.е. резервуар имеет коническую форму. Это выгодно тем, что усиливается эффект скольжения, так что можно использовать биомассу с пониженной сыпучестью.

В любом из вариантов осуществления изобретения неперемешиваемый закрытый инкубационный

резервуар может иметь изолирующую матирующую или пуклеванную охлаждающую рубашку и средства для контроля температуры в инкубационном резервуаре.

Посредством предлагаемого способа этанол можно выделять от питательной смеси обычными способами, например с помощью вакуума и/или введения пара, и можно извлечь более 98 вес.% полученного неочищенного этанола. Выход этанола зависит от содержания углеводов в инкубационной смеси и конверсии в сбраживаемые сахара. Исходя из обезжиренной сои, можно получить 4-5 вес.% этанола, тогда как из пшеницы можно получить около 20 вес.%.

Таким образом, в своем втором аспекте изобретение предлагает неочищенный этанол, получаемый способом согласно изобретению и содержащий, кроме того, небольшие количества побочных продуктов, образованных при инкубации указанной биомассы, например другие спирты и простые эфиры.

В первом варианте осуществления твердого продукта превращения субстрата согласно изобретению субстрат был высушен до содержания воды, не превышающего 15%, 13%, 10%, 6%, 4% или 2 вес.%, и факультативно находится в измельченной форме.

В любом из вариантов осуществления твердого продукта по изобретению он может быть продуктом превращения белкового материала, олигосахаридов и/или полисахаридов, происходящий из указанной биомассы. Твердый продукт превращения будет иметь сниженное содержание антипитательных факторов, например ингибиторов трипсина, антигенов, вызывающих метеоризм олигосахаридов, например стахиозы и раффинозы; фитиновой кислоты и лецитинов.

Твердый продукт по изобретению в любом из вариантов осуществления может содержать в пересчете на сухую массу по меньшей мере 40 вес.% белкового материала, происходящего из сои.

Твердый продукт по изобретению в любом из вариантов осуществления может содержать в пересчете на сухую массу по меньшей мере 40 вес.% белкового материала, происходящего из рапсового семени.

Твердый продукт по изобретению в любом из вариантов осуществления может содержать белки в количестве в пересчете на сухую массу 30-65 вес.%, происходящие из частей растений сои, рапса или подсолнечника или их смесей.

Твердый продукт по изобретению в любом из вариантов осуществления может иметь полное количество раффинозы, стахиозы и вербаскозы меньше или равное 3 вес.%, например 2 вес.% или меньше, 1 вес.% или меньше, 0,5 вес.% или меньше или 0,4 вес.% или меньше.

Твердый продукт по изобретению в любом из вариантов осуществления может содержать органические кислоты, выбранные из янтарной кислоты, уксусной кислоты и их смесей, в количестве от 0,01 до 0,5 вес.%.

Наконец, изобретение относится к пищевому, кормовому, косметическому или фармацевтическому продукту или пищевой добавке, содержащему/ей от 1 до 99 вес.% твердого продукта превращения согласно изобретению.

Примеры

Пример 1. Сравнительная инкубация биомассы, содержащей полисахариды и белки из стручков бобовых, в открытом и закрытом реакторе периодического действия.

Далее сравниваются инкубация биомассы на основе сои при атмосферном давлении и при повышенном давлении.

1.1. Питательная смесь.

10 кг луценных обезжиренных соевых хлопьев, из которых был удален растворитель, смешивали с 3 кг суспензии дрожжей (10% с.в.) и добавляли воду в таком количестве, чтобы достичь содержания сухого вещества в смеси 51 вес.%. Отношение объемной плотности питательной смеси во влажном состоянии к объемной плотности в сухом состоянии составило 0,832.

1.2. Инкубационный резервуар.

В качестве открытого и закрытого реактора периодического действия использовали 40-литровый изолированный автоклав, оснащенный датчиком температуры и давления.

Резервуар заполняли примерно 15 кг питательной смеси и оставляли открытым для испытания при атмосферном давлении, а затем закрывали для инкубации под давлением, крышка имела клапан с регулятором давления, установленным на открывание при давлении 6,0 бар.

1.3. Результаты.

Фиг. 1 иллюстрирует повышение температуры и давления как функцию времени инкубации.

Фиг. 2 показывает эволюцию температуры при испытании при атмосферном давлении в зависимости от времени инкубации.

Уменьшение содержания олигосахаридов после 6 ч инкубации приведено в следующей таблице.

Параметр	Стахиоза вес. %	Раффиноза вес. %
Питательная смесь	4,0	1,5
Инкубация при повышенном давлении	1,5	0,0
Инкубация при атмосферном давлении	1,6	0,0

Эти результаты позволяют сделать вывод, что можно проводить инкубацию под давлением и при этом получить снижение содержания олигосахаридов, близкое к получаемому при атмосферном давлении, если правильно выбрать влажностные условия, т.е. отношение объемной плотности во влажном состоянии к объемной плотности в сухом состоянии.

Пример 2. Отношение объемной плотности во влажном состоянии к объемной плотности в сухом состоянии для предпочтительных субстратов на основе различных видов биомассы.

2.1. Биомасса, использованная в экспериментах.

Соя.

В качестве сои использовали обезжиренную соевую муку.

Кукуруза.

В качестве кукурузы использовали цельную кукурузу, раздробленную в молотковой дробилке до размера 3,5 мм.

Пшеница.

В качестве пшеницы использовали цельную пшеницу, раздробленную в молотковой дробилке до размера 3,5 мм.

Подсолнечник.

В качестве подсолнечника использовали обезжиренные гранулы подсолнечника, размолотые в блендере.

Семена рапса.

В качестве семян рапса использовали обезжиренную рапсовую муку.

Кормовые бобы.

Использованные бобы представляли собой цельные кормовые бобы, измельченные в блендере.

Гороховый белок.

В качестве горохового белка использовали концентрат горохового белка.

2.2. Описание процедуры.

Количество биомассы и воды, приведенные ниже в таблице, перемешивали в течение 10 мин, а затем приводили в равновесие течение 50 мин в закрытом резервуаре.

После этого материал выливали в мерный стакан на 500 мл и определяли вес материала, взвешивая стакан и вычитая вес стакана.

Объемную плотность (в $\text{кг}/\text{м}^3$) рассчитывали как отношении массы к объему без утряски.

В качестве объемной плотности в сухом состоянии использовали измеренную объемную плотность биомассы без добавления воды.

Объемная плотность во влажном состоянии представляла собой объемную плотность биомассы с добавленной водой.

Отношение рассчитывали, деля объемную плотность во влажном состоянии на объемную плотность в сухом состоянии.

Содержание влаги в биомассе определяли путем сушки до постоянного веса.

После добавления воды влажность смеси определяли расчетным путем.

2.3. Результаты.

Результаты для 100% сои и 80%-й смеси сои приведены в таблице ниже.

Соя	Кукуруза	Пшеница	Подсолнечник	Рапс	Кормовые бобы	Горох	Вода	Влажность %	Объемная плотность кг/м³	Отношение
1000г							0г	10,9	665	-
1000г							100г	19,0	638	0,96
1000г							250г	28,7	500	0,75
1000г							450г	38,6	476	0,72
1000г							750г	49,1	470	0,71
1000г							900г	53,1	572	0,86
1000г							1100г	57,6	655	0,98
1000г							1400г	62,9	715	1,07
1000г							1900г	69,3	889	1,34
800г	200г						0г	11,4	703	-
800г	200г						450г	38,9	617	0,88
800г	200г						900г	53,4	634	0,90
800г	200г						1900г	69,4	1008	1,43
800г		200г					0г	11,7	694	-
800г		200г					450г	39,1	580	0,84
800г		200г					900г	53,5	623	0,90
800г		200г					1900г	69,5	960	1,38
800г			200г				0г	10,4	683	-
800г			200г				450г	38,2	554	0,81
800г			200г				900г	52,9	598	0,88
800г			200г				1900г	69,1	926	1,36
800г				200г			0г	11,3	711	-
800г				200г			100г	19,4	576	0,81
800г				200г			250г	29,0	514	0,72
800г				200г			450г	38,8	483	0,68
800г				200г			750г	49,3	490	0,69
800г				200г			900г	53,3	597	0,84
800г				200г			1100г	57,8	528	0,74
800г				200г			1900г	69,4	908	1,28
800г					200г		0г	11,1	691	-
800г					200г		450г	38,7	569	0,82
800г					200г		900г	53,2	605	0,88
800г					200г		1900г	69,3	941	1,36
800г						200г	0г	11,2	703	-
800г						200г	450г	38,7	488	0,69
800г						200г	900г	53,2	728	1,04
800г						200г	1900г	69,4	964	1,37

Результаты для 60%-й и 40%-й смеси сои с кукурузой, подсолнечником и рапсом, а также для 100%-го семени рапса приведены в таблице ниже.

038913

Соя	Кукуруза	Подсолнечник	Рапс	Вода	Влажность %	Объемная плотность кг/м ³	Отношение
600г	400г			0г	11,8	703	-
600г	400г			250г	29,5	651	0,93
600г	400г			450г	39,2	626	0,89
600г	400г			750г	49,6	631	0,90
600г	400г			900г	53,6	666	0,95
600г	400г			1100г	58,0	723	1,03
600г	400г			1400г	63,3	796	1,13
600г		400г		0г	10,0	644	-
600г		400г		100г	18,2	530	0,82
600г		400г		250г	28,0	435	0,68
600г		400г		450г	37,9	433	0,67
600г		400г		750г	48,6	436	0,68
600г		400г		900г	52,6	480	0,75
600г		400г		1100г	57,1	449	0,70
600г		400г		1400г	62,5	616	0,96
600г			400г	0г	11,7	643	-
600г			400г	100г	19,7	560	0,82
600г			400г	250г	29,4	502	0,78
600г			400г	450г	39,1	503	0,78
600г			400г	750г	49,5	492	0,77
600г			400г	900г	53,5	516	0,80
600г			400г	1100г	57,9	545	0,85
600г			400г	1400г	63,2	655	1,02
400г	600г			0г	12,3	718	-
400г	600г			250г	29,9	636	0,89
400г	600г			450г	39,5	638	0,89

400Г	600Г			750Г	49,9	666	0,93
400Г	600Г			900Г	53,8	721	1,00
400Г	600Г			1100Г	58,2	802	1,12
400Г	600Г			1400Г	63,5	988	1,38
400Г		600Г		0Г	9,5	654	-
400Г		600Г		100Г	17,7	535	0,82
400Г		600Г		250Г	27,6	422	0,65
400Г		600Г		450Г	37,6	487	0,74
400Г		600Г		750Г	48,3	491	0,75
400Г		600Г		900Г	52,4	512	0,78
400Г		600Г		1100Г	56,9	585	0,89
400Г		600Г		1400Г	62,3	612	0,94
400Г			600Г	0Г	12,1	658	-
400Г			600Г	100Г	20,1	556	0,84
400Г			600Г	250Г	29,7	471	0,72
400Г			600Г	450Г	39,4	458	0,70
400Г			600Г	750Г	49,8	486	0,74
400Г			600Г	900Г	53,7	486	0,74
400Г			600Г	1100Г	58,1	531	0,81
400Г			600Г	1400Г	63,4	605	0,92
0Г			1000Г	0Г	12,9	616	-
0Г			1000Г	100Г	20,8	484	0,79
0Г			1000Г	250Г	30,3	438	0,71
0Г			1000Г	450Г	39,9	457	0,74
0Г			1000Г	750Г	50,2	507	0,82
0Г			1000Г	900Г	54,1	535	0,87
0Г			1000Г	1100Г	58,5	585	0,95
0Г			1000Г	1400Г	63,7	688	1,12

Отношение плотностей (объемная плотность во влажном состоянии/объемная плотность в сухом состоянии) в зависимости от влажности для соевой муки и рапсовой муки, а также их смесей графически показано на фиг. 3.

Пример 3. Лабораторные инкубационные испытания со способом согласно предшествующему уровню техники в сравнении со способом по новой технологии.

3.1. Обоснование.

Целью следующих лабораторных инкубационных испытаний было имитировать условия способа известного уровня техники (РАМ), описанного в WO 2013050456, и условия способа по настоящему изобретению (NTM).

В способе предшествующего уровня (РАМ) образованный CO₂ может свободно выделяться в окру-

жающую среду, тогда как в способе по новой технологии (NTM), предлагаемому настоящим изобретением, выделение CO₂ ограничено сильнее, т.е. парциальное давление CO₂ выше.

3.2. Материалы и методы.

3.2.1. Материалы.

Биомассы: мука соевых бобов (SBM), рапсовая мука (RSM) и мука семян подсолнечника (SSM), как описано в разделе 2.1.

Вода: обычная водопроводная вода.

Дрожжи: хлебопекарные дрожжи от De Danske Gærfabrikker, Grenå, Дания.

Технологическая добавка: α-галактозидаза от Bio-Cat (12500 ед/г).

Каждая инкубационная смесь имела содержание биомассы 150 г св. при разном количестве воды, 0,4 вес.% дрожжей и 0,12 вес.% α-галактозидазы, все в пересчете на сухой вес биомассы.

Составы инкубационных смесей приведены ниже в таблице.

Биомасса	Влажность вес. %	SBM 90,1% с.в. (г)	RSM 87,2% с.в. (г)	SSM 90,7% с.в. (г)	Вода (мл)	Дрожжи (20% с.в.) (мл)	α- галактозидаза (мг)
100% SBM	45	166,7	-	-	103	3,0	182
100% SBM	60	166,7	-	-	205	3,0	182
100% SBM	65	166,7	-	-	259	3,0	182
80% SBM/ 20% RSM	45	133,3	34,4	-	102	3,0	182
80% SBM/ 20% RSM	60	133,3	34,4	-	204	3,0	182
60% SBM/ 40% SSM	45	100	-	66,2	104	3,0	182
60% SBM/ 40% SSM	60	100	-	66,2	206	3,0	182

3.2.2. Использованные экспериментальные методы.

Инкубационный резервуар.

Для способа согласно уровню техники (РАМ) использовали конические колбы, заполненные наполовину и неплотно закрытые алюминиевой фольгой. Для способа по новой технологии (NTM) использовали прочные пластиковые пакеты, сдавленные вручную для удаления воздуха и завязанные лентой, чтобы мог выходить CO₂.

Инкубация.

Все образцы инкубировали 16 ч при 32°C в термостатированной водяной бане.

Инкубацию останавливали путем нагревания до 100°C в течение 30 мин, за исключением образцов для анализа на этанол, когда инкубацию останавливали замораживанием.

Аналитические методы.

Используемые аналитические методы упоминаются в следующих разделах, описывающих отдельные результаты.

3.3. Результаты.

3.3.1. Плотность.

Определение объемной плотности проводили, выливая некоторое количество материала (250-460 мл) в градуированный цилиндр на 500 мл и считывая объем после уравнивания поверхности путем осторожного потряхивания (без толчков) цилиндра. После этого определяли вес материала.

Расчеты проводили, как описано в разделе 2.2.

Результаты приведены в таблице ниже.

Способ	Биомасса	Влажность вес. %	Отношение плотностей	Объемная плотность субстрата в сухом состоянии кг/м ³	Объемная плотность субстрата во влажном состоянии кг/м ³ (1)	Объемная плотность во влажном состоянии после инкубации кг/м ³ (2)	Изменение объемной плотности во влажном состоянии кг/м ³ (2) минус (1)
РАМ	100% SBM	45	0,89	654	583	568	-15
	100% SBM	60	1,05	642	673	645	-28
	100% SBM	65	1,29	654	843	552	-291
NTM	100% SBM	45	0,90	641	580	926	346
	100% SBM	60	1,06	641	682	852	170
	100% SBM	65	1,27	641	817	992	175
РАМ	80% SBM/ 20% RSM	45	0,89	671	598	530	-68
	80% SBM/20% RSM	60	1,05	671	701	635	66
NTM	80% SBM/20% RSM	45	0,90	641	580	869	289
	80% SBM/20% RSM	60	1,11	658	732	970	238
РАМ	60% SBM/40% SSM	45	0,82	652	536	506	-30
	60% SBM/40% SSM	60	1,06	665	703	518	-185
NTM	60% SBM/40% SSM	45	0,84	639	535	858	323
	60% SBM/40% SSM	60	1,06	652	692	1045	353

Комментарии.

Из результатов видно, что после инкубации способом РАМ объемная плотность уменьшается, а после инкубации способом NTM плотность увеличивается.

Чтобы проверить влияние сдавливания пакетов, четыре разных субстрата были обработаны без инкубации. Результаты этих четырех измерений показали максимальное увеличение 60 кг/м³ и среднее значение 33,5 кг/м³. Следовательно, увеличение плотности является очевидным фактом.

3.3.2. Содержание белка.

Содержание общего белка определяли по методу Дюма, используя коэффициент 6,25 в качестве переводного коэффициента.

Результаты приведены в таблице ниже.

Способ	Биомасса	Влажность вес. %	Содержание белка в биомассе вес. % с.в. (1)	Содержание белка в продукте превращения вес. % с.в. (2)	изменение содержания белка вес. % с.в. (2) минус (1) (1)	Относит ельное повышен ие содержа ния белка %
PAM	100% SBM	45	54,8	60,4	5,6	10,2
	100% SBM	60	54,8	61,6	6,8	12,4
	100% SBM	65	54,8	62,1	7,3	13,3
NTM	100% SBM	45	54,8	59,9	5,1	9,3
	100% SBM	60	54,8	60,8	6,0	10,9
	100% SBM	65	54,8	61,7	6,9	12,6
PAM	80% SBM/ 20% RSM	45	52,6	56,0	3,4	6,4
	80% SBM/ 20% RSM	60	52,6	58,3	5,7	10,8
NTM	80% SBM/ 20% RSM	45	52,6	56,6	4,0	7,6
	80% SBM/ 20% RSM	60	52,6	57,3	4,7	8,9
PAM	60% SBM/	45	48,9	51,7	2,8	5,7
	40% SSM					
	60% SBM/ 40% SSM	60	48,9	54,3	5,4	11,0
NTM	60% SBM/ 40% SSM	45	48,9	54,1	5,2	10,6
	60% SBM/ 40% SSM	60	48,9	52,0	3,1	6,3

3.3.3. Содержание спирта в инкубационной смеси.

Содержание этанола анализировали способом, разработанным Центром сертификации по химической безопасности Eurofins, внутренний код способа RTTEF.

Результаты приведены в таблице ниже.

Способ	Группа биомассы	Влажность, %	Содержание EtOH, г на кг влажного веса инкубационной смеси	Содержание EtOH, г на кг сухого веса инкубационной смеси	Ранжирование в группе биомасс
PAM	100% SBM	45	12,0	21,8	6
	100% SBM	60	20,0	50,0	3
	100% SBM	65	13,0	48,6	4
					-
NTM	100% SBM	45	18,0	32,7	5
	100% SBM	60	21,0	52,6	1
	100% SBM	65	18,0	51,4	2
PAM	80% SBM/ 20% RSM	45	19,0	34,5	3
	80% SBM/ 20% RSM	60	13,0	32,5	4
					-
NTM	80% SBM/ 20% RSM	45	23,0	41,8	2
	80% SBM/ 20% RSM	60	20,5	51,3	1
PAM	60% SBM/ 40% SSM	45	20,0	36,4	2
	60% SBM/ 40% SSM	60	13,0	32,5	4
NTM	60% SBM/ 40% SSM	45	18,0	32,7	3
	60% SBM/ 40% SSM	60	18,0	45,0	1

Комментарии.

Из ранжирования EtOH, образованного в группе биомасс, видно, что при способе NTM детектируется больше спирта, чем при способе PAM.

3.3.4. Олигосахариды.

Содержание стахиозы и раффинозы определяли методом тонкослойной хроматографии.

Стационарная фаза - силикагель 60 (Merck 1.05553.0001).

Подвижная фаза - 120 мл н-бутанола, 80 мл пиридина и 60 мл деминерализованной воды.

Пятна визуализировали с помощью жидкости, состоящей из 8 г дифениламина, 335 мл ацетона, 8 мл анилина и 60 мл фосфорной кислоты.

Концентрации сахаров определяли путем сравнения с известными стандартами.

Результаты приведены в таблице ниже.

Способ	Биомасса	Влажность вес. % с.в.	Стахиоза в биомассе , вес. % с.в.	Раффиноза в биомассе, вес. % с.в	Стахиоза+раф финоза в биомассе, вес. % с.в.	Стахиоза после инкубации вес. % с.в.	Раффиноза после инкубации вес. % с.в.	Стахиоза+р аффиноза после инкубации вес. % с.в.	Относительное уменьшение, %
PAM	100% SBM	45	4,7	1,0	5,7	0,2	0,2	0,4	93
	100% SBM	60	4,7	1,0	5,7	0	0	0	100
	100% SBM	65	4,7	1,0	5,7	0	0	0	100
NTM	100% SBM	45	4,7	1,0	5,7	0,2	0,2	0,4	93
	100% SBM	60	4,7	1,0	5,7	0	0	0	100
	100% SBM	65	4,7	1,0	5,7	0	0	0	100
PAM	80% SBM/ 20% RSM	45	4,0	0,9	4,9	0,2	0,2	0,4	92
	80% SBM/ 20% RSM	60	4,0	0,9	4,9	0	0	0	100
NTM	80% SBM/ 20% RSM	45	4,0	0,9	4,9	0,2	0,2	0,4	92
	80% SBM/ 20% RSM	60	4,0	0,9	4,9	0	0	0	100
PAM	60% SBM/ 40% SSM	45	2,9	1,2	4,1	0,2	0,2	0,4	90
	60% SBM/ 40% SSM	60	2,9	1,2	4,1	0	0	0	100
NTM	60% SBM/ 40% SSM	45	2,9	1,2	4,1	0,2	0,2	0,4	90
	60% SBM/ 40% SSM	60	2,9	1,2	4,1	0	0	0	100

Комментарии.

Оба способа выполнялись одинаково хорошо, и при влагосодержании более 45% измеренное снижение содержания олигосахаридов составило 100%.

3.3.5. Органические кислоты.

Содержание янтарной и уксусной кислот анализировали способом, разработанным Центром сертификации по химической безопасности Eurofins, внутренний код способа HEG12.

Результаты сведены в таблице ниже.

Способ	Группа биомассы	Влажность, вес. %	Янтарная кислота, мг на кг с.в.	Уксусная кислота, мг на кг с.в.	Янтарная+уксусная кислоты, мг на кг с.в.	Ранжирование в группе биомасс
PAM	100% SBM	45	1818	3091	4909	3
	100% SBM	60	4500	1625	6125	1
	100% SBM	65	1314	1114	2428	5
						-
NTM	100% SBM	45	600	1818	2418	6
	100% SBM	60	1300	1150	2450	4
	100% SBM	65	4000	1371	5371	2
						-
PAM	80% SBM/ 20% RSM	45	3636	3636	7272	1
	80% SBM/ 20% RSM	60	4250	1750	6000	2
						-
NTM	80% SBM/ 20% RSM	45	1818	1437	3255	3
	80% SBM/ 20% RSM	60	1925	925	2850	4
						-
PAM	60% SBM/ 40% SSM	45	5091	1527	6618	1
	60% SBM/ 40% SSM	60	5000	600	5600	2
						-
NTM	60% SBM/ 40% SSM	45	2545	636	3181	3
	60% SBM/ 40% SSM	60	2500	325	2825	4

Комментарии.

Из ранжирования в группе биомассы видно, что способ PAM дает больше янтарной и уксусной кислот, чем способ NTM.

3.4. Выводы.

Из полученных результатов можно видеть, что способ NTM дает твердый продукт превращения с чуть меньшим количеством белка и меньшим количеством янтарной и уксусной кислот, чем продукт на основе способа PAM. В то же время содержание спирта в инкубационной смеси, полученной способом NTM, выше.

Пример 4. Инкубация биомассы, содержащей полисахариды и белки из стручков бобовых, в вертикальном инкубаторе непрерывного действия.

Далее иллюстрируется инкубация биомассы на основе смеси обезжиренной сои в вертикальном закрытом перемешиваемом инкубаторе.

4.1. Инкубационная смесь.

Смесь лущеных, обезжиренных соевых хлопьев, из которых был удален растворитель, и суспензии дрожжей и воды готовили в непрерывном режиме в таком количестве, чтобы достичь содержания сухих веществ в смеси 45 вес. %.

Инкубационная смесь имела содержание дрожжей в пересчете на полный сухой вес 3,5 вес. %. Отношение объемной плотности инкубационной смеси во влажном состоянии к объемной плотности в сухом состоянии составило 0,895.

4.2. Инкубатор.

Использовали пилотный инкубатор, представляющий собой изолированную вытянутую цилиндрическую трубу из нержавеющей стали с внутренним диаметром 1,55 м и полной высотой 4,75 м. В верхней части находился набор из трех вращающихся измерителей уровня лопастного типа для удерживания системы ввода и распределения на уровне 4,25 м. Это дает инкубатору эффективный рабочий объем 8 м³.

Кроме того, инкубатор был оборудован датчиком температуры как на входе, так и на выходе.

4.3. Методика испытаний.

Инкубатор заполняли инкубационной смесью со скоростью 1000 л/ч. Через 8 ч инкубатор был заполнен до рабочего уровня, и средства выпуска были установлены на такую скорость, чтобы поддержи-

вать постоянный уровень заполнения.

Аликвотный объем около 30 л отбирали через 10 ч испытательного цикла и инкубировали при 100°C острым паром 25 мин, избыточный пар, содержащий неочищенный этанол, переносили в охлаждающий теплообменник.

Затем влажный твердый продукт превращения биомассы подвергали мгновенной сушке и размалывали.

Общие параметры инкубации были следующими:

продолжительность инкубации - 8 ч,

температура на входе - 25,2°C,

температура на выходе - 32,3°C.

4.4. Результаты.

Содержание выделенного неочищенного этанола соответствует выходу 4,7 кг на 100 кг биомассы. Твердый продукт превращения биомассы имел содержание общего сырого белка (N×6,25) 58,3%. Содержание воды в сухом продукте составляло 5,4 вес.%.

Кроме того, антипитательные факторы в сухом твердом продукте превращения были значительно снижены.

Параметр	Биомасса	Твердый продукт превращения
олигосахариды	10,2%	0,5%
ингибитор трипсина	43000 ТИЕ/г	1900 ТИЕ/г
β-конглицинин	130000 ppm	2 ppm

Твердый продукт превращения является высокопитательным и приятным на вкус и, таким образом, подходит в качестве ингредиента для ряда пищевых или кормовых продуктов или пищевых добавок. Кроме того, он может использоваться в качестве вспомогательного вещества в фармацевтических продуктах и в косметике, например, в рецептурах для ванн.

Пример 5. Инкубация биомассы, содержащей полисахариды и белки из смеси стручков бобовых и злаков, в вертикальном инкубаторе непрерывного действия.

Далее иллюстрируется инкубация биомассы на основе смеси обезжиренной сои и пшеницы, в вертикальном закрытом неперемешиваемом инкубаторе.

5.1. Инкубационная смесь.

Смесь, содержащую в пересчете на сухое вещество 10 вес.% дробленой пшеницы и 90 вес.% лучших обезжиренных соевых хлопьев, из которых был удален растворитель, и суспензии дрожжей, ферментов и воды, готовили в непрерывном режиме в таком количестве, чтобы достичь содержания сухих веществ в смеси 40 вес.%. Инкубационная смесь имела содержание в пересчете на сухое вещество 3 вес.% дрожжей и 0,4 вес.% пшеницы сортов Viscozyme Wheat, Spirizyme Fuel и Liquozyme, все от фирмы Novozymes.

Отношение объемной плотности инкубационной смеси во влажном состоянии к объемной плотности в сухом состоянии составляло 0,984.

5.2. Инкубатор.

Использовали инкубатор, который описан в примере 4.

5.3. Методика испытаний.

Методика испытаний была той же, какая описана в примере 4, за исключением того, что в этом процессе средства ввода были установлены на работу с объемной скоростью 500 л/ч.

Общие параметры инкубации были следующими:

продолжительность инкубации - 16 ч,

температура на входе - 25,1°C,

температура на выходе - 33,1°C.

5.4. Результаты.

Содержание выделенного неочищенного этанола соответствует выходу 8,4 кг на 100 кг биомассы. Твердый продукт превращения биомассы имел содержание сырого белка (N×6,25) 59,4 вес.% и содержание воды 6,2 вес.%.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ одновременного получения твердого продукта превращения субстрата и неочищенного этанола, включающий следующие стадии:

приготавливают субстрат из молотой или плющенной в хлопья биомассы, содержащей белковый материал, происходящий из соевых бобов, семян рапса или их смесей;

смешивают указанный субстрат с живыми дрожжами в отношении сухих веществ от 1:1 до 10000:1 по массе и добавляют воду в количестве, которое обеспечивает содержание воды от 35 до 70 вес.%, и

отношение объемной плотности полученной смеси во влажном состоянии к объемной плотности в сухом состоянии от 0,60 до 1,45;

инкубируют указанную смесь в течение 1-48 ч при температуре примерно 20-60°C и

выделяют неочищенный этанол и влажный твердый продукт превращения из указанной смеси;

в котором способ предусматривает также, что указанная инкубация реализуется как непрерывный процесс вытеснения в вертикальном закрытом резервуаре без перемешивания, содержащем средства для ввода указанной смеси и добавок и средства для выпуска указанного твердого продукта превращения и неочищенного этанола.

2. Способ по п.1, в котором указанная биомасса дополнительно содержит белковый материал, происходящий из кормовых бобов, гороха, подсолнечника, люпина, злаковых и/или трав.

3. Способ по пп.1 и 2, в котором по меньшей мере 20 вес.% указанной биомассы составляет белковый материал, происходящий из обезжиренных соевых хлопьев.

4. Способ по любому из пп.1-3, в котором по меньшей мере 20 вес.% указанной биомассы составляет белковый материал, происходящий из обезжиренного рапсового семени.

5. Способ по любому из пп.1-3, в котором по меньшей мере 30 вес.%, например по меньшей мере 40 вес.%, по меньшей мере 50 вес.%, по меньшей мере 60 вес.%, по меньшей мере 70 вес.%, по меньшей мере 80 вес.% или по меньшей мере 90 вес.% указанной биомассы составляет белковый материал, происходящий из обезжиренных соевых хлопьев.

6. Способ по любому из пп.1 или 4, в котором по меньшей мере 30 вес.%, например по меньшей мере 40 вес.%, по меньшей мере 50 вес.%, по меньшей мере 60 вес.%, по меньшей мере 70 вес.%, по меньшей мере 80 вес.% или по меньшей мере 90 вес.% указанной биомассы составляет белковый материал, происходящий из обезжиренного рапсового семени.

7. Способ по любому из предыдущих пунктов, в котором указанная биомасса, содержащая белковый материал, дополнительно содержит олигосахариды и/или полисахариды и/или содержит также масла и жиры, например, из семян масличных растений.

8. Способ по любому из предыдущих пунктов, в котором указанный твердый продукт превращения субстрата является продуктом превращения белкового материала, олигосахаридов и/или полисахаридов, происходящих из указанной биомассы.

9. Способ по любому из предыдущих пунктов, в котором отношение сухих веществ биомассы и дрожжей составляет от 2:1 до 5000:1, например 3:1, 5:1, 10:1, 15:1, 20:1, 30:1, 50:1, 70:1, 75:1, 85:1, 100:1, 200:1, 300:1, 500:1, 1000:1, 2000:1, 3000:1 или 4000:1.

10. Способ по любому из предыдущих пунктов, в котором воду добавляют в указанный субстрат в таком количестве, чтобы получить отношение объемной плотности субстрата во влажном состоянии к объемной плотности в сухом состоянии от 0,65 до 1,40, например 0,70, 0,75, 0,80, 0,85, 0,90, 0,95, 1,00, 1,10, 1,15, 1,20, 1,25, 1,30 или 1,35.

11. Способ по любому из пп.1, или 4, или 6, в котором воду добавляют в указанный субстрат в таком количестве, чтобы получить отношение объемной плотности субстрата во влажном состоянии к объемной плотности в сухом состоянии от 0,65 до 1,05, например, от 0,75 до 1,00, например 0,80, 0,85, 0,90 или 0,95.

12. Способ по любому из предыдущих пунктов, в котором указанные живые дрожжи выбраны из штаммов *Saccharomyces cerevisiae*, включая использованные пивные дрожжи, использованные спиртовые дрожжи, хлебопекарные дрожжи и использованные дрожжи винного производства, а также из дрожжевых штаммов, ферментирующих C5 сахара.

13. Способ по любому из предыдущих пунктов, в котором в субстрат перед или во время указанной инкубации добавляют одну или более технологических добавок, выбранных из ферментов, растительных компонентов и органических и неорганических агентов обработки.

14. Способ по любому из предыдущих пунктов, в котором степень заполнения указанного закрытого инкубационного резервуара поддерживают постоянной.

15. Способ по любому из предыдущих пунктов, в котором в субстрат перед или после указанной инкубации добавляют α -галактозидазу.

16. Способ по п.15, в котором препарат α -галактозидазы, имеющий активность примерно 5000 единиц α -галактозидазы на 1 г ферментного продукта, добавляют в субстрат в количестве в пересчете на сухой вес субстрата от примерно 0,001 до примерно 1 вес.%, например в количестве 0,005, 0,01, 0,015, 0,02, 0,03, 0,05, 0,1, 0,5 или 0,75 вес.%.

17. Способ по любому из предыдущих пунктов, в котором указанная инкубация проводится в анаэробных условиях.

18. Способ по любому из предыдущих пунктов, в котором содержание воды в указанной смеси составляет от 35 до 70 вес.%, например 45, 50, 55, 60 или 66 вес.%.

19. Способ по любому из предыдущих пунктов, дополнительно включающий сушку твердого продукта превращения субстрата.

20. Способ по п.19, дополнительно включающий размалывание сухого твердого продукта превра-

шения субстрата.

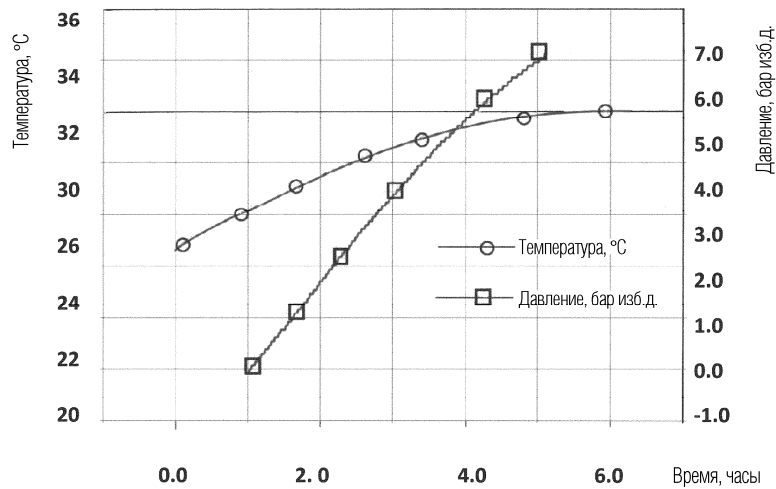
21. Способ по любому из предыдущих пунктов, в котором указанный закрытый инкубационный резервуар без перемешивания является вертикальным резервуаром вытянутого цилиндрического или полиэдрического типа.

22. Способ по любому из предыдущих пунктов, в котором площадь верхней части указанного закрытого инкубационного резервуара без перемешивания меньше площади нижней части, т.е. резервуар имеет коническую форму.

23. Способ по любому из предыдущих пунктов, в котором указанный закрытый инкубационный резервуар без перемешивания имеет изолирующую матирующую или пуклеванную охлаждающую рубашку и средства для контроля температуры в резервуаре.

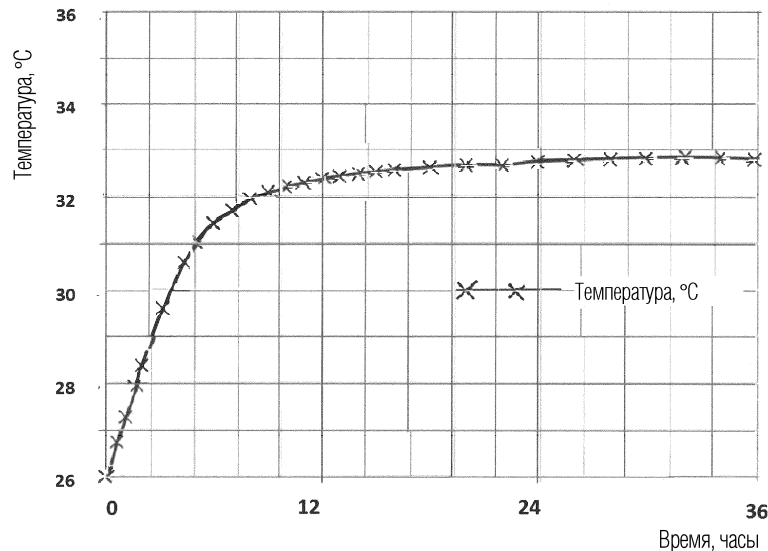
24. Способ по любому из предыдущих пунктов, дополнительно включающий извлечение по меньшей мере 90 вес.%, например по меньшей мере 95 вес.%, например по меньшей мере 98 вес.% или 99 вес.% полученного неочищенного этанола из указанной смеси.

График температуры и давления



Фиг. 1

Ферментация при атмосферном давлении



Фиг. 2



Фиг. 3