



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

258043

(11) B₁

(61)

(23) Výstavní priorita
(22) Přihlášeno 04 06 84
(21) PV 4192-84
(89) 1234422, SU

(51) Int. Cl.⁴

G 12 N 1/14,
G 12 N 1/22

(40) Zveřejněno 14 05 87
(45) Vydáno 30.08.88

(75)
Autor vynálezu

REDIKULCEV JURIJ VASILJEVIČ, LITVINĚNKO LEONID ANDREJEVIČ,
GOLOVLEV JEVGENIJ LEONIDOVICH, ČERMENSKIJ DMITRIJ NIKOLAJEVIČ,
GOLOVLEVA LJUDMILA ALEXEJEVNA, OKUNĚV OLEG NIKOLAJEVIČ, PUŠČINO,
CKRJABIN GEORGIJ KONSTANTINOVICH, MOSKVA (SU)

(54)

Způsob pěstování myceliárních hub na pevném substrátu

Způsob pěstování myceliárních hub na pevném substrátu spočívá v tom, že fermentor se naplní pevným substrátem, substrát se zvlhčí živným roztokem až k úplnému nasycení, sterilizuje se, přidá se inokulát, termostatuje se a aeruje impulsně přivodem stlačeného vzduchu až k dosažení tlaku ve fermentoru 0,04 až 0,06 MPa. Plynnou a kapalnou směs, vytlačovanou z fermentoru, lze využít k ředění inokulátoru, který se přivádí do fermentoru spolu se stlačeným plynem, přičemž se proces uskutečňuje v režimu cirkulace plynné a kapalně směsí.

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ

Заявлено: 01.02.83

Заявка: № 3538451/28-13

МКИ³: C 12 N 1/14, C 12 N 1/22

Авторы: Ю.В.Редикульцев, Л.А.Литвиненко,
Е.Л.Головлев, Д.Н.Черменский, Л.А.Головлева,
О.Н.Окунев, Г.К.Скрябин

Заявитель: Институт биохимии и физиологии микроорганизмов Академии наук СССР

Название изобретения: СПОСОБ ВЫРАЩИВАНИЯ МИЦЕЛИАЛЬНЫХ
ГРИБОВ НА ТВЕРДОМ СУБСТРАТЕ

Изобретение относится к технической микробиологии, а именно, к способу выращивания мицелиальных грибов, способных использовать в качестве питательных субстратов компоненты растительного материала - целлюлозу, гемицеллюлозы, лигнин, и может быть использовано в микробиологической, медицинской промышленности, в сельском хозяйстве при обогащении микробным белком грубых растительных кормов, а также в научно-исследовательской практике.

Известен способ выращивания мицелиальных грибов, предусматривающий предварительную обработку исходного субстрата, внесение инокулята, аэрирование, термостатирование, периодическое механическое перемешивание субстрата /1/.

Известен также способ выращивания мицелиальных грибов на твердом субстрате, предусматривающий заполнение ферментера твердым субстратом, увлажнение субстрата, стерилизацию, добавление инокулята, термостатирование и аэрацию /2/.

Указанный способ заключается в том, что твердый субстрат, инокулированный спорами или мицелием, помещают в зазоры между гофрированными пластинами теплообмен-

ника, ширина которого составляет 3-5 см, и проводят его аэрацию. Гофрированные пластины позволяют обеспечить равномерное распределение воздуха по каждому из заполненных субстратом зазору и его увлажнение за счёт конденсации влаги на поверхностях гофр при теплообмене. Такой способ выращивания микроорганизмов позволяет максимально использовать возможности поверхностного роста мицелия на твердой питательной среде в одном объеме. Оптимальная толщина слоя при максимальном выходе продукта по данному способу составляет не более 3 см, поэтому выход биомассы не высок.

Цель изобретения - увеличение выхода биомассы за счёт глубинного роста мицелия.

Указанная цель достигается тем, что в способе выращивания мицелиальных грибов на твердом субстрате, предусматривающем заполнение ферментера твердым субстратом, увлажнение субстрата, стерилизацию, добавление инокулята, термостатирование и аэрацию, предложено увлажнение субстрата вести питательным раствором до полного насыщения, аэрацию проводить импульсно путем подачи сжатого воздуха до достижения давления в ферментере 0,04-0,06 МПа, вытесняемую из ферментера газожидкостную смесь использовать для разбавления инокулята, который подают вместе со сжатым воздухом, при этом процесс осуществлять в режиме циркуляции газожидкостной смеси.

Целесообразно циркуляцию газожидкостной смеси осуществлять в направлении сверху вниз.

Способ иллюстрируется технологической схемой, изображенной на сопровождающем чертеже, в соответствии с которой ферментер 1, применяемый для осуществления описываемого способа, представляет собой сосуд, в полость которого через крышку установлен патрубок 2 для подачи питательного раствора, инокулята и сжатого воздуха. К ферментеру подсоединена ячейка-смеситель 3, которая с помощью обратных клапанов 4 и трубопроводов 5 образу-

ет контур циркуляции газожидкостной смеси. К верхней части ячейки-смесителя 3 через фильтр 6 подключены источник 7 сжатого воздуха (например, пневмогенератор 7) и емкость 8 с инокулятом.

При осуществлении способа весь объем ферментера I загружают твердым измельченным субстратом, смачивают его питательным раствором. Ферментер I герметизируют и стерилизуют в автоклаве. Затем ферментер I термостатируют и в ячейку-смеситель 3 вносят инокулят в жидкости, объем которой соответствует полному насыщению субстрата из емкости 8. Через фильтр 6 с помощью пневмогенератора 7 проводят импульсную подачу сжатого воздуха до достижения давления в ферментере I 0,04-0,06 МПа. Часть образующейся газожидкостной смеси отбирают и жидкую фракцию используют для разбавления инокулята, который подают вместе со сжатым воздухом.

При таком циклическом воздействии сжатым воздухом посредством обратных клапанов 4 и трубопроводов 5 образуется контур циркуляции газожидкостной смеси, состоящей из питательной среды, инокулята, экстракта, выделившегося из субстрата, и воздуха.

При таком ведении процесса достигается рост мицелия грибов во всем объеме ферментера.

Пример I.

В ферментер объемом 3 дм³ загружают березовые опилки, которые заполняют весь рабочий объем ферментера. Опилки увлажняют при перемешивании 500 мл среды следующего состава: г/л K_2HPO_4 - 0,2; KH_2PO_4 - 0,6; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ - 0,5; $CaCO_3$ - 0,2; NH_4NO_3 - 0,2; pH - 5,0 до влажности 85%. Ферментер стерилизуют при 1 атм 1 час.

Содержимое ферментера инокулируют 150 мл 4 суточного мицелия гриба *Panus tigrinus* F - 2475 D, выращенного на среде, г/л: глицерин - 5; пептон - 5; соевая мука - 5; KNO_3 - 2; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ - 0,5; $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ - 0,1; pH - 6,0; инокулят вносят в объем по-

средством циклической рециркуляции. Ферментацию проводят при температуре 24-26°C, аэрацию осуществляют импульсной подачей сжатого воздуха до избыточного давления 0,04 МПа. Частота импульсов - 1 имп/мин. При таком воздействии аэрирующим воздухом из ферментера циклически отбирают газожидкостную смесь в объеме, составляющем 1/10 часть объема ферментера. Жидкую фракцию газожидкостной смеси используют для разбавления инокулята. Через двое суток наблюдали активный рост мицелия по всему объему ферментера. Через две недели ферментационная масса, представляющая собой остатки опилок и мицелий гриба, была проанализирована на различных уровнях и на разном расстоянии от стенок ферментера на содержание белка, целлюлозы, лигнина и влажность. Данные, представленные в таблице I, показывают, что рост гриба происходит не только по поверхностям раздела фаз, но и по всей толщине субстрата.

Характеристика продукта ферментации березовых опилок грибом *Panus tigrinus* F-2475D

Таблица I

Анализируемые слои	Влаж- ность, %	Потребление		Белок, %
		лигнина, %	целлюлозы, %	
Верхний слой				
0 - 4 см	75-72	53-49	46-42	3,8
4 - 8 см	70-72	49-47	42-37	2,7
Средний слой				
8 - 12 см	70-74	47-45	37-35	2,1
Пристеночный слой	69	50	43	3,0

Содержание белка в исходном субстрате 0,6%.

Пример 2.

Культивирование проводили как в примере I, но использовали штамм гриба *Pholiota tuberculosa* I5I/I20 и инокулят вносили в середину ферментера. Давление в ферментере - 0,05 МПа, частота импульсов - 15 имп/мин, объем отбираемой газожидкостной смеси составлял 1/20 объема ферментера. Активный рост наблюдали через 2 суток. Результаты представлены в таблице 2.

Обогащение белком и потребление целлюлозы при ферментации опилок грибом *Pholiota tuberculosa* I5I/I20*

Таблица 2

Анализируемые слои	Содержание белка**	Потребление целлюлозы (в %)
Верхний слой	2,13	32,0
Средний слой	2,15	30,5
Нижний слой	2,8	37,0
Пристеночный слой	2,05	27

* Содержание влаги во всех слоях одинаково.

** Содержание белка в исходном субстрате 0,65%.

Пример 3.

Культивирование проводили как в примере I, но инокулят вносили сверху. Давление в ферментере - 0,06 МПа, частота импульсов - 30 имп/мин, объем отбираемой газожидкостной смеси - 1/50 от объема ферментера. Активный рост начинался через 3 суток. Обогащение белком опилок ферментации составляло 2,35% (средняя проба), потребление целлюлозы 29,5%.

Пример 4.

Культивирование проводили как в примере I, но использовали гриб *Chaltomium trilaterate* Chivers 24K,

субстратом служила пшеничная солома. Частота импульсов - 110 имп/мин, объем отбираемой газожидкостной смеси - 1/100 объема ферментера.

Обогащение белком и потребление целлюлозы при ферментации пшеничной соломы грибом *Chaetomium trilaterale* Chivers 24K.

Таблица 3

Анализируемые слои	Белок (в %)*	Потребление целлюлозы (в %)
Верхний слой	7,4	21
Средний слой	8,5	31
Нижний слой	8,4	24
Пристеночный слой	8,3	26

* Содержание белка в исходном субстрате 5,4%.

Таким образом, описанный способ культивирования мицелиальных грибов позволяет достичь глубинного роста мицелия во всем объеме ферментера, что увеличивает выход биомассы и потребление твердого субстрата. Кроме того, способ осуществим без перемешивающих устройств, что увеличивает полезный объем ферментера.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

Способ выращивания мицелиальных грибов на твердом субстрате, предусматривающий заполнение ферментера твердым субстратом, увлажнение субстрата, стерилизацию, добавление инокулята, термостатирование и аэрацию, отличающийся тем, что, с целью увеличения выхода биомассы за счёт глубинного роста мицелия, увлажнение субстрата ведут питательным раствором до полного насыщения, аэрацию проводят импульсно путем подачи сжатого воздуха до достижения давления в ферментере 0,04-0,06 МПа, вытесняемую из ферментера газожидкостную смесь используют для разбавления инокулята, который подают в ферментер вместе со сжатым воздухом, при этом процесс осуществляют в режиме циркуляции газожидкостной смеси.

Источники информации, принятые во внимание при экспертизе:

1. У.Э.Виестур. Биореактор для твердофазной ферментации. Тезисы докладов Всесоюзного симпозиума "Биоконверсия растительного сырья" т.2, Рига, 1982 г.

2. Заявка Японии № 56-9317, класс C 12 N 1/00, 1981.

РЕФЕРАТ

СПОСОБ ВЫРАЩИВАНИЯ МИЦЕЛИАЛЬНЫХ ГРИБОВ НА ТВЕРДОМ СУБСТРАТЕ

Способ выращивания мицелиальных грибов на твердом субстрате заключается в том, что ферментер I заполняют твердым субстратом, увлажняют субстрат питательным раствором до полного насыщения, стерилизуют, добавляют инокулят, термостатируют и аэрируют импульсно путем подачи сжатого воздуха до достижения давления в ферментере I $0,04-0,06$ МПа. Вытесняемую из ферментера I газожидкостную смесь используют для разбавления инокулята, который подают в ферментер I вместе со сжатым воздухом, при этом процесс осуществляют в режиме циркуляции газожидкостной смеси.

Сопровождающий чертеж.

Признано изобретением по результатам экспертиз, осуществленной Государственным Комитетом СССР по делам изобретений и открытий.

1 чертеж

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

Způsob pěstování myceliálních hub na pevném substrátu, který zahrnuje naplnění fermentoru pevným substrátem, zvlhčení substrátu, sterilizaci, přidání inokulátu, termostatování a aeraci, vyznačující se tím, že s cílem zvýšení výroby biomasy na základě hloubkového růstu mycelia, se zvlažování substrátu provádí živným roztokem do úplného nasycení, aerace se provádí impulsně přívodem stlačeného vzduchu až do dosažení tlaku ve fermentoru 0,04 až 0,06 MPa, plynné a kapalně směsi, vytlačované z fermentoru se použije k ředění inokulátu, který se přivádí do fermentoru spolu se stlačeným vzduchem, přičemž se proces uskutečňuje v režimu cirkulace plynné a kapalně směsi.

258043

