



Государственный комитет
СССР
по делам изобретений
и открытий

О П И С А Н И Е ИЗОБРЕТЕНИЯ

К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ

(11) 840099

(61) Дополнительное к авт. свид-ву -

(22) Заявлено 09.12.77 (21) 2548551/28-13

с присоединением заявки № -

(23) Приоритет -

Опубликовано 23.06.81, Бюллетень № 23

Дата опубликования описания 23.06.81

(51) М. Кл.³

С 12 С 7/04

(53) УДК 633.53
(088.8)

(72) Авторы
изобретения

Т.И. Просветова, Е.А. Двадцатова, В.Л. Яровенко,
Н.Я. Васильева, Б.М. Нахманович, Б.А. Устинников, В.Ф. Шамрин,
С.И. Караичев, С.В. Пыхова, А.Н. Лазарева и Л.И. Воронова

(71) Заявитель

Всесоюзный научно-исследовательский институт продуктов
брожения

(54) СПОСОБ ОСАХАРИВАНИЯ КРАХМАЛИСТОГО СЫРЬЯ ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ СПИРТА

Изобретение относится к спиртовой промышленности, в частности к способам осахаривания крахмалистого сырья.

Известен способ осахаривания крахмалистого сырья при производстве спирта путем внесения в него культуры-продуцента α -амилазы из рода *Bacillus* в смеси с культурой-продуцентом глюкоамилазы [1].

Недостатком известного способа является длительность процесса осахаривания и сбраживания, так как используемые культуры обладают недостаточной активностью, а также большой расход осахаривающих культур.

Цель изобретения - интенсификация процесса осахаривания и сбраживания и сокращение расхода осахаривающих культур.

Эта цель достигается тем, что из рода *Bacillus* используют штамм дрожжей *Bacillus mesentericus* ПБСр, ВНИИПрБ № ЦМПМ В-1559 в виде культуральной жидкости, а в качестве культуры-продуцента глюкоамилазы - штамм дрожжей *Endomycopsis fibuligera* Dekker-21 в соотношении соответственно 6-8 ед/мл ГЛА и 1,0-1,5 ед/мл АС на 1 г крахмала.

Штамм - продуцент α -амилазы выращивают на среде, содержащей картофельный крахмал, кукурузную муку, кукурузный экстракт, двузамещенный фосфат аммония и карбонат кальция.

Способ осуществляют следующим образом.

Разваренную крахмалсодержащую массу охлаждают до 55-60°C и задают в нее смесь культур *Bacillus mesentericus* ПБСр, ВНИИПрБ № ЦМПМ В-1559 и *Endomycopsis fibuligera* (Lindner) Dekker-21 в соотношении соответственно 6-8 ед/мл ГЛА и 1,0-1,5 ед/мл АС на 1 г крахмала. Осахаривание осуществляют в течение 15-20 мин, а затем осахаренную массу охлаждают до 20-24°C и передают на сбраживание.

Штамм *Bacillus mesentericus* ПБСр, ВНИИПрБ № ЦМПМ В-1559 получен в результате лабораторной изменчивости при длительном хранении на питательной среде, состоящей из картофеля и физиологического раствора.

Предлагаемый штамм обладает высокой активностью α -амилазы - 30-70 ед/мл культуральной жидкости (в зависимости от состава среды).

Наибольшая активность при культу-

вировании при 40°C достигает 70 ед/мл.

Культура *Bacillus mesentericus* ПБ Sp, ВНИИПрБ относится к группе бактерий сенной и картофельной палочек. Штамм имеет следующую характеристику.

Морфологические признаки. Палочки размером 4-5 мк x 0,8-1,0 мк, иногда образующие цепочки из 2-4 палочек. Однообразно окрашенные, без капсул, неподвижные, окраска по Граму положительная, окрашиваются разбавленным раствором метиленовой сини или нейтральроетом. Протоплазма окрашивается однородно.

Бактерия спорообразующая.

Рост культуры на питательных средах.

На картофельном агар-агаре культура вырастает колониями округлой формы, колонии по цвету белые или тускло-белые. Поверхность колоний шероховатая, центр выпуклый.

На МПА-колонии белые или тускло-белые, округлой формы, диаметр 2-2,5 мм;

На МПБ культура вырастает белой складчатой пленкой. Возможно однородное или хлопьевидное помутнение.

Дыхание аэробное.

Ферментирует без выделения газа глюкозу, мальтозу, сахарозу, ксилузу, манит, сорбит.

Использует цитрат. Крахмал разжижает. Казеин гидролизует. Ацетилметилкарбинол образует.

Оптимальная температура роста для биосинтеза α-амилазы 40-42°C. Минимальная температура роста 20°C, максимальная - 50°C.

Патогенными и токсическими свойствами не обладает.

Культивирование *Bacillus mesentericus* ПБ Sp, ВНИИПрБ - продуцента α-амилазы осуществляют на среде, в которой в качестве источника углерода используют картофельный крахмал и кукурузную муку, а из минеральных солей - двухзамещенный фосфат аммония и карбонат кальция. Источником биологически активных веществ является кукурузный экстракт, или ОБК, или кормовые дрожжи. Процентное соотношение ингредиентов среды, %:

Картофельный крахмал	1,0-1,2
Кукурузная мука	1,5-1,7
(NH ₄) ₂ HPO ₄	0,25-0,30
CaCO ₃	0,20-0,22
Кукурузный экстракт	0,20-0,22
ОБК	3,50-4,00
Дрожжи кормовые	4,00-4,10
Вода	Остальное

Штамм *Endomycopsis fibuligera* (Lindner) Dekker-21 - продуцент глюкоамилазы имеет следующую характеристику. На жидком сусле - септированный мицелий, незначительное

число почкующихся дрожжевых клеток овальной формы размерами 9-10x5-6 мкм. На сусло-агаре колонии беловатые, пушистые, выпуклые, с ровными краями. Сбраживает глюкозу, сахарозу, мальтозу, рафинозу - слабо, галактозу и лактозу не сбраживает. Ассимилирует многие сахара, крахмал, высшие спирты, органические кислоты. Нитраты не ассимилирует, арбутин не расщепляет, в среде без витаминов не растет.

Для накопления глюкоамилазы данным штаммом используется среда следующего состава, %: растворимый крахмал 1,6; соевая мука 8; кукурузный экстракт 4; фосфорнокислый калий 0,06; однозамещенный фосфорнокислый аммоний 0,16.

Пример 1. Разваренную массу охлаждают до 55°C и задают в нее смесь культур *Endomycopsis fibuligera* Dekker-21, денсифицированный в ИБФМ АН СССР под № У744, и *Bacillus mesentericus* ПБ Sp, ВНИИПрБ, депонированный в ВНИИгенетика ЦМП В-1559, в соотношении 8 ед/мл ГЛА и 1,5 ед/мл АС. Штамм *Endomycopsis fibuligera* Dekker-21 выращивают на среде следующего состава, %: крахмал 1,6; соевая мука 8; кукурузный экстракт 4; KH₂PO₄ 0,06; NH₄H₂PO₄ 0,16.

Штамм *Bacillus mesentericus* ПБ Sp, ВНИИПрБ выращивают на среде следующего состава, вес. %: крахмал картофельный 1,0; мука кукурузная 1,5; (NH₄)₂HPO₄ 0,25; CaCO₃ 0,20; кукурузный экстракт 0,2; вода - остальное.

Расход культуральной жидкости на осахаривание *Bacillus mesentericus* ПБ Sp, ВНИИПрБ с активностью 30 ед/мл составляет 0,05 мл, а *Endomycopsis fibuligera* Dekker-21 - 0,4 мл на 1 г крахмала.

Процесс осахаривания ведут при 57°C, в течение 20 мин, pH среды составляет 5,2-5,0. Осахаренная масса охлаждается до 30°C после чего в нее задается суспензия дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* расы XII, из расчета содержания в 1 мл сусла 10-12 млн. клеток.

Процесс сбраживания осуществляют при 28-30°C в течение 60 ч.

Пример 2. Технологические операции осуществляют аналогично примеру 1, только в питательную среду для выращивания *Bacillus mesentericus* ПБ Sp, ВНИИПрБ задают вместо кукурузного экстракта обогащенный белковый концентрат в количестве 4%. Расход культуральной жидкости *Bacillus mesentericus* ПБ Sp, ВНИИПрБ с активностью 50 ед/мл составляет 0,03 мл, а *Endomycopsis fibuligera* Dekker - 0,3 мл на 1 г крахмала.

Таким образом, данные примеры не исчерпывают возможности предлагаемого способа, но показывают, что штамм вида *Bacillus mesentericus*

ПБ Sp.ВНИИПрБ-1755 обладает комплексом амилолитических и протеолитических ферментов, необходимых для глубокого осахаривания крахмалистого сырья.

Способность комплекса амилитических ферментов быстро и полно гидролизовать крахмал до сбраживаемых сахаров, а комплекса протеолитических ферментов катализировать гидролиз белков и пептидов до аминокислот делает данный вид и штамм ценным для производства спирта, так как способствует интенсификации процесса осахаривания, происходящего под действием комплекса ферментов.

Протеолитическая активность штамма 1,6-1,7 ед/мл способствует накоплению в процессе спиртового брожения в среде аминокислот, необходимых для ускорения дрожегенерации, и активизации дрожжей.

Все это в совокупности с высокоактивным штаммом *Endomycopsis fibuligera* Dekker-21 обеспечивает интенсификацию процесса осахаривания и сбраживания, сокращает расход осахаривающих культур.

Кроме того, достигается более глубокое сбраживание полисахаридов, и снижение содержания несброженных сахаров в бражке.

Формула изобретения

1. Способ осахаривания крахмалистого сырья при производстве спирта путем внесения в него культуры - продуцента α -амилазы из рода *Bacillus* в смеси с культурой - продуцентом глюкоамилазы, отличающийся тем, что, с целью интенсификации процесса осахаривания и сбраживания и сохранения расхода осахаривающих культур, из рода *Bacillus* используют штамм дрожжей *Bacillus mesentericus* ПБ Sp.ВНИИПрБ № ЦМПМ В-1559 в виде культуральной жидкости, а в качестве культуры-продуцента глюкоамилазы - штамм дрожжей *Endomycopsis fibuligera* Dekker-21 в соотношении и соответственно 6-8 ед/мл ГЛА и 1,0-1,5 ед/мл АС на 1 г крахмала.

2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что штамм - продуцент α -амилазы выращивают на среде, содержащей картофельный крахмал, кукурузную муку, кукурузный экстракт, двузамещенный фосфат аммония и карбонат кальция.

Источники информации,

принятые во внимание при экспертизе

1. Ферментные препараты в пищевой промышленности. М., 1975, с. 419-458.

Составитель Л. Пашинина

Редактор О. Черниченко

Техред Ж. Кастелевич

Корректор С. Щомак

Заказ 4663/32

Тираж 528

Подписное

ВНИИПИ Государственного комитета СССР

по делам изобретений и открытий

113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., д. 4/5

Филиал ППП "Патент", г. Ужгород, ул. Проектная, 4