



СОЮЗ СОВЕТСКИХ
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ
РЕСПУБЛИК

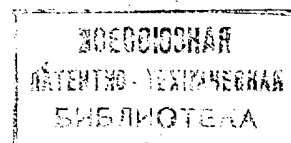
(19) **SU** (11) **1597383** **A1**

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ
ПО ИЗОБРЕТЕНИЯМ И ОТКРЫТИЯМ
ПРИ ГНТ СССР

(51) $5, C 12 N 1/14 // (C 12 N 1/14,$
 $C 12 R 1:785)$

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ



- (21) 4324338/31-13
(22) 20.07.87
(46) 07.10.90. Бюл. № 37
(71) Ташкентский политехнический институт им. А.Р.Бируни
(72) Р.Мирзакаримов, С.Х.Абдуразакова, Ш.И.Хакимова, М.А.Рахимджанов, Р.Н.Ким и Л.С.Тарнопольский
(53) 663.15(088.8)
(56) Авторское свидетельство СССР № 718964, кл. А 23 J 1/14, 1978.
Авторское свидетельство СССР № 590330, кл. С 11 В 1/10, 1976.
(54) СПОСОБ ДЕТОКСИКАЦИИ ГОССИПОЛА В ОБЕЗЖИРЕННОМ МАТЕРИАЛЕ
(57) Изобретение относится к биотехнологии и касается детоксикации гос-

сипола, содержащегося в ядре хлопковых семян, с помощью штамма плесневого гриба. Цель изобретения - улучшение качества конечного продукта за счет повышения содержания в нем белка. Способ заключается в измельчении хлопкового шрота, содержащего 0,2-0,6% госсипола, до частиц диаметром 0,5-1,0 мм, смешивании его с водой в соотношении 1:10-1:15 и выращивании штамма плесневого гриба *Mucor hiemalis* ВКПМФ-312 при 25-30°C в течение 18-24 ч. После окончания процесса содержание нативного госсипола в конечном продукте составляет 0,011-0,012%, а общего белка 44,9-45,4%. 6 табл.

Изобретение относится к биотехнологии и касается детоксикации госсипола, содержащегося в ядре хлопковых семян, с помощью штамма плесневого гриба.

Целью изобретения является улучшение качества конечного продукта за счет повышения содержания в нем белка.

Способ осуществляют следующим образом.

Хлопковый шрот, содержащий 0,2 - 0,6% госсипола, измельчают до частиц диаметром 0,5-1,0 мм, смешивают с водой в соотношении 1:10-4:15 и инокулируют суспензией штамма плесневого гриба *Mucor hiemalis* ВКПМ F-312 (штамм Ташкентский). Культивирование ведут при 25-30°C в течение 18-24 ч.

Штамм выделен из воздуха микробиологической лаборатории путем посева пробы воздуха на увлажненный хлопковый шрот, содержащий 3,0-3,5% госсипола.

Штамм хранят на среде, приготовленной на основе риса. Для этого 3-4 г риса помещают в пробирку, заливают двойным объемом воды и стерилизуют при 0,5 атм в течение 20 мин. Осуществляют посев уколом. Пробирки хранят в холодильнике. Пересев осуществляют 1 раз в 5-6 мес.

Характеристика штамма. Колонии быстросрастающие, хорошо спороносящие. Воздушный мицелий рыхлопушистый, ватообразный, слегка шелковистый, 4,5 - 5,0 см высоты, вначале белый, затем палевого цвета. Стилоспорангиеносцы

(19) **SU** (11) **1597383** **A1**

прямые, длинные, простые, 10-25 мкм в диаметре. Стилоспорангии шаровидные, 80-110 мкм в диаметре, с гладкой нерастворяющейся кутинизированной оболочкой.

Колонка полушаровидная (18-20×30-35 мкм), а иногда грушевидная (30-35×37-40 мкм), неокрашенная.

Спорангиоспоры круглые (8-10 мкм) или овальные и яйцевидные (7,5 х 12,5 мкм), неокрашенные.

Хламидоспоры многочисленные, эллиптические, эллиптически-шаровидные и цилиндрические размером 20×35 - 12 х 16 мкм.

Образования зигоспор не наблюдают.

Наиболее бурный рост и развитие достигается на третьей сутки культивирования штамма на среде Чапека, увлажненном шроте и питательной среде из риса. Максимальная активность штамма по расщеплению госсипола также происходит на третьей сутки культивирования на шроте, содержащем госсипол в количестве 0,02-3,5%.

Штамм мезофильный. Максимальная температура роста 42-43°C, оптимальная 25-30°C, минимальная 1-3°C. Оптимальный pH 5-6.

Для выявления активности штамма плесневого гриба *M. hiemalis* ВКПМ F-312 и эффективности его воздействия на госсипол используют обогащенную госсиполом фракцию шрота, полученную прямой экстракцией высушенного тонкоизмельченного ядра хлопковых семян во взвешенном состоянии с последующим фракционированием обезжиренного материала на белковую и госсиполовую фракции шрота. Такая переработка ядра позволяет концентрировать содержащийся в сырье госсипол в госсиполовой фракции, имеющей следующий состав, %: масло 0,86-0,98; нативный госсипол 3,457-3,674; общий белок (сырой протеин) 44,3-45,1; белок водорастворимый 8,2-8,6; белок солерастворимый 28,2-28,5; белок щелочерастворимый 15,3-15,8; лузга 11,5-13,4; клетчатка 14,7-17,2.

Готовят различные разведения госсиполовой фракции в воде, в которых содержание нативного госсипола составляет 3,5; 1,0; 0,5; 0,1; 0,05 и 0,01%.

С целью ликвидации случайной микрофлоры, содержащейся в составе госсиполовой фракции шрота, ее подвергают

термообработке при 80°C в течение 60 мин. Затем охлажденный до 30°C шрот инокулируют суспензией чистой культуры штамма в количестве 3-5% от массы шрота и осуществляют культивирование в течение 18-24 ч.

Результаты экспериментов, характеризующие эффективность воздействия штамма на госсипол в госсиполовой фракции шрота, представлены в табл. 1.

Из табл. 1 видно, что независимо от исходного содержания госсипола в сырье конечный продукт имеет процент нативного госсипола (до 0,016%) ниже стандартного, а кроме того, наряду с детоксикацией госсипола наблюдается повышение общего белка в продукте на 2,0-1,5%.

Оптимальные условия биологической детоксикации шрота выявляют на основе исследований среднего гранулометрического состава материала, который изменяют от 100%-ного прохода через сито с диаметром пор 4 мм до 100%-ного прохода через сито с диаметром пор 0,25 мм.

В табл. 2 представлены данные влияния степени измельчения шрота на эффективность его облагораживания.

Результаты, представленные в табл. 2, показывают, что с уменьшением размера частиц эффективность процесса детоксикации повышается. При тостировании шрота с размером частиц более 1 мм не достигается продукт с нижестандартным содержанием токсичного госсипола. Дальнейшее увеличение степени измельчения позволяет снизить содержание госсипола в шроте до нижестандартного (0,006-0,011%). Однако указанный процент достигается при среднем размере частиц 0,05 мм, а более тонкое измельчение не вызывает существенного уменьшения содержания токсичного госсипола, хотя требует дополнительных затрат. Наряду с этим повышается содержание общего азота и его растворимых фракций. На основании полученных данных оптимальной принимают степень измельчения шрота, соответствующую размеру частиц 0,5-1,0 мм.

На развитие гриба влияет соотношение фаз вода:шрот. Исследуя указанный фактор, измеряют его в пределах от 1:2 до 1:20.

Влияние соотношения фаз на эффект облагораживания шрота дано в табл.3.

Данные табл. 3 свидетельствуют об увеличении эффекта процесса детоксикации с повышением количества воды в смеси до 1:15. При этом достигается шрот с нижестандартным содержанием нативного госсипола. Дальнейшее разбавление целесообразно ввиду не-
 5 которого увеличения содержания токсина в продукте и дополнительного расхода воды, что требует увеличения
 10 размеров ферментеров. Оптимальность соотношения фаз 1:10-1:15 доказывается и максимальным содержанием общего белка и его растворимых фракций.

Влияние температурного режима на облагораживание шрота изучают, изменяя температуру от 15 до 60°C. При температурах процесса до 25°C продукт облагораживания содержит 0,004-0,052% нативного госсипола, что значительно выше допустимого. В
 15 интервале 25-30°C получают шрот с содержанием токсина 0,010-0,013%, т.е. нижестандартный, а повышение температуры выше 30°C ведет к увеличению содержания нативного госсипола до 0,027-0,064%. Таким образом, оптималь-
 20 ной является температура 25-30°C.

С целью определения оптимальной продолжительности облагораживания шрота изучают ее влияние в интервале от 1 до 48 ч на эффект детоксикации
 30 нативного госсипола. Результаты экспериментов представлены в табл.4.

Из табл.4 видно, что процесс эффективен в пределах до 24 ч, а шрот с нижестандартным содержанием нативного госсипола получают при длительности ферментации не менее 18 ч. Увеличение времени облагораживания более 24 ч неэффективно ввиду снижения
 40 нативного госсипола на очень малую величину и отсутствия положительного влияния на содержание общего белка и его растворимых фракций.

Конечный продукт характеризуется следующими показателями (табл. 5): содержание общего белка увеличивается после 24-часовой белковой обработки на 2,2%, а после 36-часовой - на 3% по сравнению с исходным (заводским) шротом; улучшается фракционный состав
 50 белка за счет снижения нерастворимого остатка и одновременного увеличения водо- и солерастворимых фракций; снижается уровень содержания сырой клетчатки на 8-10%.

В табл. 6 представлены данные содержания аминокислот в шроте до и после микробиологической детоксикации.

Из табл. 6 видно, что процесс ферментации обуславливает некоторое увеличение валина и аргинина при снижении содержания некоторых аминокислот (аланин, глицин).

Пример 1. Хлопковый шрот, содержащий 0,2-0,4% нативного госсипола после стерилизации, смешивают с водой в соотношении 1:2 и инкубируют посевной культурой штамма в количестве 4% от массы перерабатываемого шрота. Смесь равномерным слоем в 2,5-3,0 см укладывают на кюветах и помещают в растительную камеру. После 36-часовой экспозиции при 28-30°C шрот
 25 измельчают и высушивают. Взятые на анализ пробы дают следующие показатели: содержание нативного госсипола 0,012%, а общего белка 45,4%.

Пример 2. Госсиполовую фракцию шрота с содержанием 1,75-2,14% госсипола подвергают стерилизации при 85-90°C в течение 30 мин. После охлаждения до 25-30°C сырье перемешивают со стерилизованной водой в соотношении 1:2 и посевной культурой штамма плесневого гриба в количестве 4% от массы перерабатываемого материала. Кюветы со смесью выдерживают в растительной камере при 25-28°C в течение 36 ч при интенсивности продувки
 35 воздуха 8 м³/ч на 1 кг перерабатываемого материала. После окончания процесса продукт измельчают и высушивают до влажности 9-9,5%. Результаты полученного продукта: содержание нативного госсипола 0,011%, а общего белка 44,9%.

Ф о р м у л а и з о б р е т е н и я

Способ детоксикации госсипола в обезжиренном материале, предусматривающий измельчение материала, добавление воды и последующую обработку, отличающийся тем, что, с целью улучшения качества конечного
 50 продукта за счет повышения содержания в нем белка, измельчение материала осуществляют до частиц диаметром 0,5-1,0 мм, смешивание его с водой ведут в соотношении 1:10-1:15, а обработку осуществляют путем выращивания штамма гриба *Mucor hiemalis* ВКПМ F-312 при 25-30°C в течение 18-24 ч.

Т а б л и ц а 1

Опыт	Содержание в госсиполовой фракции шрота, %			
	до ферментации		после ферментации	
	нативного госсипола	общего белка	нативного госсипола	общего белка
1	3,352-3,675	44,3-45,1	0,012-0,016	45,8-46,2
2	1,085-1,054	-	0,011-0,015	46,3-46,5
3	0,534-0,613	-	0,007-0,008	46,2-46,4
4	0,134-0,159	-	0,007-0,008	46,1-46,3
5	0,050-0,063	-	Следы	46,2-46,5
6	0,025-0,035	-	"-	46,3-46,4

Т а б л и ц а 2

Степень измельчения шрота, проход через сито с диаметром, мм	Содержание в облагороженном шроте, %		
	нативного госсипола	общего азота	растворимых фракций белка
4	0,047-0,054	44,8-45,6	70,1-70,6
3	0,029-0,036	45,1-45,6	70,4-71,2
1	0,012-0,019	46,0-46,4	71,3-71,7
0,5	0,006-0,011	46,2-46,7	71,2-71,7
0,25	0,007-0,010	46,2-46,5	70,8-71,6

Т а б л и ц а 3

Соотношение фаз	Содержание в облагороженном шроте, %		
	нативного госсипола	общего белка	растворимых фракций белка
1:2	0,125-0,168	44,4-45,2	70,4-70,7
1:5	0,042-0,056	45,1-45,9	71,1-71,5
1:10	0,007-0,013	45,7-46,6	70,8-71,8
1:15	0,017-0,023	45,8-46,4	71,6-71,9
1:20	0,021-0,027	46,1-46,5	71,3-72,4

Т а б л и ц а 4

Время ферментации, ч	Содержание в облагороженном шроте, %		
	нативного госсипола	общего белка	растворимых фракций белка
1	0,347-0,475	43,7-44,5	68,4-70,1
3	0,107-0,124	44,1-45,1	71,0-71,6
12	0,048-0,053	44,6-45,3	71,1-71,4
18	0,014-0,018	45,4-46,1	71,3-72,0
24	0,009-0,012	46,0-46,6	71,6-72,4
36	0,010-0,013	46,2-46,7	71,4-72,8

Таблица 5

Шрот	Время ферментации, ч	Содержание, %					
		Общий белок	Белковые фракции, растворимые в			Нерастворимый остаток	Клетчатка
			воде	10%-ной NaCl	0,2%-ной NaOH		
Облагороженный	24	45,0-45,4	21,3-22,8	19,7-21,0	19,3-20,0	39,7-36,2	1,4-1,5
	36	45,6-45,9	22,6-23,7	19,8-21,5	18,9-19,2	38,7-35,6	1,39-1,5
Заводской	-	44,0-44,2	12,8-13,6	13,1-15,7	24,8-27,3	49,3-43,4	1,41-1,5
							13,0-13,5
							12,2-12,8
							13,9-14,1

Таблица 6

Аминокислота	Содержание аминокислоты, г/кг	
	Заводской шрот	Отработанный шрот
Лизин	7,22	8,2
Метионин	4,05	5,4
Лейцин	20,05	23,7
Изолейцин	16,1	17,3
Фенилаланин	18,53	18,74
Треонин	12,62	12,67
Валин	13,59	15,1
Триптофан	4,76	5,79
Аргинин	48,07	51,8
Гистидин	9,58	11,67
Глутаминовая кислота	61,5	62,7
Аспарагиновая кислота	30,2	30,8
Серин	15,15	15,5
Глицин	15,38	13,55
Аланин	14,22	12,92

Редактор И.Дербак Составитель И.Привалова
Техред М.Дидык Корректор Л.Пилипенко

Заказ 3032 Тираж 494 Подписное
ВНИИПИ Государственного комитета по изобретениям и открытиям при ГКНТ СССР
113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., д. 4/5

Производственно-издательский комбинат "Патент", г.Ужгород, ул. Гагарина, 101