

На правах рукописи

Башашкина Елена Валерьевна

**Комплексная переработка кофейного шлама
с получением белково-углеводной кормовой
добавки и «сырого» экстракта кофейного масла**

Специальность: 03.01.06 – Биотехнология (в т.ч. бионанотехнологии)

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата технических наук

Москва – 2011

Работа выполнена на кафедре биотехнологии Российского химико-технологического университета им. Д.И. Менделеева

Научный руководитель: кандидат технических наук,
доцент
Шакир Ирина Васильевна

Официальные оппоненты: доктор технических наук,
профессор
Винаров Александр Юрьевич
ОАО ГосНИИсинтезбелок

доктор технических наук,
профессор
Борисенко Евгений Георгиевич
Московский государственный
университет пищевых произ-
водств

Ведущая организация: ФГБ ОУ ВПО Московский госу-
дарственный университет инже-
нерной экологии

Защита состоится «22» ноября 2011 г. в 10 ч. 30 мин. на заседании объединенного диссертационного Совета ДМ 212.204.13 в Российском химико-технологическом университете им. Д.И. Менделеева по адресу: 125047, г. Москва, Миусская пл., д. 9, в аудитории 443 (конференц-зал).

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-библиотечном центре РХТУ им. Д.И. Менделеева.

Автореферат диссертации разослан «21» октября 2011 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
ДМ 212.204.13



Шакир И.В.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Одним из важных направлений современной биотехнологии является эффективное использование возобновляемых источников сырья, целлюлозосодержащих отходов сельского хозяйства и пищевой промышленности для получения ценных продуктов и решения экологических проблем.

Кофе – это широко распространенная сельскохозяйственная культура пищевого назначения, перерабатываемая во всем мире, в том числе и в России. Несмотря на то, что кофейный рынок в нашей стране еще молод, производство продуктов на основе кофейных бобов (кофе в зернах, молотый кофе, растворимый кофе и др.) на территории России в течение последнего десятилетия стабильно растет, и в 2010 году объем данного сегмента рынка составил около 140 тыс. т по готовой продукции, основная доля которой (80 %) приходится на растворимый кофе [Столярова А.Н., 2010].

При производстве растворимого кофе накапливаются значительные количества отходов, такие как кофейный шлам, некондиционные зерна кофе, кофейная шелуха, кофейная пыль, дробленые частицы кофейного полуфабриката. Из 1 т кофейных зерен обычно получают всего лишь 0,33-0,37 т порошка растворимого кофе, при этом образуется свыше 0,5 т отходов, большую часть которых составляет кофейный шлам [Жуков А.В. с соавт., 2003]. Таким образом, на отдельно взятом предприятии, производящем растворимый кофе, образуется в среднем около 10-20 тыс. т в год кофейного шлама.

В настоящее время предлагается ряд технологий переработки кофейного шлама, такие как извлечение ароматических и красящих веществ, получение пектина [Мохначев И.Г. с соавт., 1998; Донченко Л.В. с соавт., 2006], одним из наиболее перспективных подходов является получение кофейного масла – ценного растительного продукта, используемого в пищевой, парфюмерно-косметической и фармацевтической промышленности [Ряшко Г.М., 2006]. Однако указанные технологии не нашли широкого применения, что обусловлено жесткими условиями проведения технологических стадий, трудоемкостью процессов, значительными капитальными вложениями, а также наличием существенных отходов после извлечения целевого продукта из кофейного шлама. Основная масса кофейного шлама просто подвергается захоронению, нанося вред окружающей среде, либо используется в качестве наполнителя в строительных смесях, что является нерациональным использованием богатого вторичного сырья.

Анализ научной и патентной литературы свидетельствует об эффективности биотехнологических переработок растительных отходов с получением таких ценных продуктов как витамины, органические кислоты, антибиотики, аминокислоты, кормовая микробная биомасса. В связи с этим микробиологическая конверсия кофейного шлама может рассматриваться как один из перспективных способов утилизации данного крупнотоннажного отхода пищевой промышленности, что позволит решить не только экологические проблемы, но и повысить экономическую эффективность производства.

Цель исследований. Разработать комплексную технологию переработки кофейного шлама в «сырой» экстракт кофейного масла и белково-углеводную кормовую добавку. Для достижения цели поставлены следующие **задачи:**

- определить химический и микробиологический состав различных партий кофейных отходов;
- исследовать способы извлечения жировой составляющей кофейного шлама («сырого» экстракта кофейного масла) и оценить ее влияние на питательную ценность субстрата;
- отобрать микроорганизмы-деструкторы отходов производства растворимого кофе;
- разработать способы предобработки субстрата для повышения степени биоконверсии кофейного шлама;
- оценить ростиингибирующий эффект «антипитательных» веществ кофейного шлама и выявить возможные пути его устранения;
- разработать лабораторный регламент комплексной переработки кофейного шлама в белково-углеводную кормовую добавку и «сырой» экстракт кофейного масла. Оценить ожидаемый эколого-экономический эффект от внедрения разработанной технологии.

Научная новизна работы.

- Проведена сравнительная оценка грибных культур (*Aspergillus flavus*, *Asp. niger*, *Asp. awamori*; *Penicillium funiculosum*, *P. chrysogenum*; *Trichoderma viride*, *Tr. harzianum*; *Fusarium poae*, *F. moniliforme*, *F. culmorum*; *Phanerochaete chrysosporium*; *Pleurotus ostreatus*) по таким критериям как накопление биомассы, степень биодеструкции клетчатки, содержание сырого протеина в конечном продукте в ходе их твердофазного культивирования на нативном кофейном шламе. В качестве наиболее активного деструктора отобран штамм *Trichoderma viride*.
- На основании скрининга дрожжевых культур (*Saccharomyces cerevisiae* штамм SL-100, а также промышленные расы “Я”, II, XII, *S. carlsbergensis*, *Candida tropicalis*, *C. utilis* и *C. maltosa*, *Rhodotorula rubra*, *Torulopsis fumata* и *T. utilis*, *Yarrowia lipolytica*) по таким критериям как удельная скорость роста, накопление биомассы, содержание сырого протеина в конечном продукте при их глубинном гетерофазном культивировании на гидролизованном кофейном шламе отобран штамм *Saccharomyces cerevisiae* II, наиболее полно усваивающий компоненты кофейных отходов.
- Впервые показано, что снижение ростиингибирующего эффекта «антипитательных» веществ кофейных отходов может быть достигнуто: введением в среду культивирования поливинилпирролидона и дигидрокверцетина; направленной адаптацией микроорганизмов к компонентам субстрата на стадии подготовки посевного материала; экстракционным извлечением жироподобных веществ из кофейного шлама органическими растворителями.
- Установлено повышение эффективности биоконверсии кофейных отходов при осуществлении предварительной обработки субстрата, включающей экстракционное извлечение «антипитательных» веществ ацетоном, кислотный гидролиз целлюлозосодержащих компонентов обезжиренного кофейного шлама, и последующего глубинного гетерофазного культивирования дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* II, что явилось научной основой для разработки комплексной технологии переработки кофейного шлама.

Практическая значимость. Разработана комплексная технология переработки кофейного шлама в белково-углеводную кормовую добавку и «сырой» экстракт кофейного масла, включающая экстракционное извлечение жироподобных веществ из кофейного шлама органическим растворителем (ацетоном); регенерацию экстракта

с получением «сырого» экстракта кофейного масла; кислотный гидролиз обезжиренного кофейного шлама и последующее глубинное гетерофазное культивирование дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* II, адаптированных в отношении компонентов субстрата, что позволяет получить белково-углеводную кормовую добавку, содержащую не менее 49,0 % сырого протеина. Разработаны лабораторный регламент и основные исходные технологические данные для создания опытной установки комплексной переработки кофейного шлама при расчетной мощности производства 10000 т в год по перерабатываемому сырью. Проведена технико-экономическая оценка эффективности ее реализации.

Апробация работы. Материалы диссертации были представлены на Всероссийской конференции «Молодые ученые и инновационные технологии» (Москва, 2008 г.), Всероссийской научно-технической конференции «Наука-Производство-Экология» (Киров, 2008 г.; Киров, 2009 г., Киров, 2010 г.), Конференции молодых ученых и специалистов отделения «Хранения и переработки сельскохозяйственной продукции» (Москва, 2009 г.), V и VI Московских Международных Конгрессах «Биотехнология: состояние и перспективы развития» (Москва, 2009 г.; Москва, 2010 г.), 8-й Международной конференции «Сотрудничество для решения проблемы отходов» (Харьков, 2011 г.).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 3 статьи в журналах, рекомендованных ВАК, 8 тезисов докладов, получен 1 патент РФ.

Объем и структура работы. Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов и их обсуждения, выводов, списка литературы. Работа изложена на 187 страницах машинописного текста, содержит 16 рисунков, 27 таблиц и 5 приложений. Библиография включает 195 наименований, из них иностранных источников – 47.

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В обзоре литературы рассмотрены особенности технологий получения растворимого кофе, общая характеристика и химический состав отходов, образующихся на отдельных стадиях технологического процесса. Представлены способы переработки кофейного шлама (физико-химические и биотехнологические). Описаны современные подходы к переработке растительных отходов и пути интенсификации процессов их микробной конверсии в продукты кормового назначения. На основе проведенного анализа научно-технической литературы сделан вывод о целесообразности использования кофейного шлама в качестве сырья для получения «сырого» экстракта кофейного масла и белково-углеводной кормовой добавки.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Основным объектом исследования являлись отходы производства растворимого кофе (кофейный шлам), предоставленные предприятием «Московская кофейня на паях». Отходы отбирали из шламособорника после предварительного выдерживания в течение 1-20 суток.

В качестве микробных объектов были использованы культуры грибов, относящиеся к родам *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Fusarium*, *Phanerochaete*, *Pleurotus*, и дрожжей – *Saccharomyces cerevisiae* штамм SL-100, а также промышленные расы “Я”, II, XII, *S. carlsbergensis*, *Candida tropicalis*, *C. utilis* и *C. maltosa*,

Rhodotorula rubra, *Torulopsis fumata* и *T. utilis*, *Yarrowia lipolytica*, полученные из коллекции кафедры биотехнологии РХТУ им. Д.И. Менделеева.

Выделение и исследование характеристик автохтонных культур микроорганизмов проводили с использованием стандартных методов (Градова Н.Б. с соавт., 2004; Нетрусов А.И. с соавт., 2006).

Жировую составляющую кофейного шлама («сырой» экстракт кофейного масла) выделяли экстракцией ацетоном с последующим упариванием до полного удаления органического растворителя при температуре 45 °С под вакуумом с использованием классической установки для простой перегонки.

Предварительная обработка кофейного шлама включала кислотный гидролиз (в лабораторном автоклаве при температуре 112 и 121 °С в интервале рН от 0,5 до 3,0) и ферментативный гидролиз комплексными ферментными препаратами – Целловиридин (целлюлолитическая активность – 1700 ед./г) и ЦеллоЛюкс-F(целлюлолитическая активность – 2000 ед./г).

Грибы и дрожжи культивировали в глубинных условиях в колбах Эрленмейера объемом 250 мл (100 мл среды) при инкубировании на качалках New Brunswick Scientific G10 (150 об/мин) при температуре 30-32 °С и 28-30 °С, соответственно, а также в лабораторном ферментере Фермус-3 НПО «Биоавтоматика» (коэффициент массопередачи по кислороду – 800-850 ч⁻¹) объемом 5 л с заполнением питательной средой на 70 % и постоянном перемешивании с интенсивностью 250 об/мин. Твердофазное культивирование грибов осуществляли при температуре 30 °С в течение 21 суток в чашках Петри (влажность субстрата поддерживалась на уровне 80 %). В качестве минеральной основы среды использовали среду Ридера. Накопление микробной биомассы определяли прямым подсчетом клеток в камере Горяева, гравиметрическим методом и косвенно по содержанию нуклеиновых кислот.

Содержание сырого протеина, истинного белка, общих углеводов и общих жиров в исследуемом субстрате и продукте определяли в соответствии с ГОСТ 28178-89. Содержание клетчатки определяли по методу «сырой клетчатки» по Геннесбергу и Штоману. Содержание фенольных соединений – модифицированным методом Фолина-Чокальтеу. Острую токсичность микробной биомассы – с помощью тест-культуры инфузорий *Tetrachymena pyriformis* [ГОСТ 28178-89].

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакетов программ «Excel», «Statistica 6.0».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Химические и микробиологические показатели отходов производства растворимого кофе

Кофейный шлам представляет собой порошок темно-коричневого цвета с запахом кофе. Основным компонентом отхода является клетчатка (54,0-56,0 %), содержание сырого протеина составляет 12,0-14,0 %, общих жиров – 12,5-14,5 % (табл. 1).

При изучении микробиологических показателей кофейных отходов установлена высокая степень их обсемененности, которая зависит от времени выдерживания в шламоборнике. Так, при выдерживании кофейного шлама в течение 20 суток общая обсемененность субстрата повысилась с 34,4 до 180,0 млн. кл/г, при этом

значительно возросла численность бактерий, сохранился уровень обсемененности плесневыми грибами, также обнаруживались единичные клетки дрожжей.

В ходе работы было выделено 8 отдельных культур, 6 из которых были отнесены к бактериям, одна культура – к плесневым грибам и одна – к дрожжам. При исследовании активности роста выделенных изолятов при глубинном и твердофазном способах культивирования на кофейных отходах было показано, что бактерии и грибы способны развиваться и осуществлять биодеструкцию кофейного шлама, тогда как для дрожжей этого выявлено не было. Однако содержание сырого протеина в конечном продукте не превышало 30,0 %, что говорит о бесперспективности использования автохтонных микроорганизмов для биоконверсии кофейного шлама.

Состав кофейного шлама

Показатель, %	Литературные данные	Экспериментальные данные
«Сырая» клетчатка	44,5-60,0	55,0±1,0
Сырой протеин	9,5-14,0	13,0±1,0
Общие жиры	10,5-17,0	13,5±1,0
Экстрагируемые углеводы	0,5-2,0	1,2±0,2
Фенольные соединения	3,5-5,0	4,0±0,5

Таблица 1.

Исследования химического состава кофейного шлама показали, что в нем содержится 13,5 % жироподобных веществ, что позволяет использовать его в качестве сырья для производства кофейного масла. «Сырой» экстракт кофейного масла получали экстракцией такими органическими растворителями как этиловый спирт, ацетон. При разработке способов экстракции было изучено влияние продолжительности процесса и начального содержания субстрата в экстракционной смеси на степень извлечения жироподобных веществ из кофейного шлама.

Выделение «сырого» экстракта кофейного масла

Исследования химического состава кофейного шлама показали, что в нем содержится 13,5 % жироподобных веществ, что позволяет использовать его в качестве сырья для производства кофейного масла. «Сырой» экстракт кофейного масла получали экстракцией такими органическими растворителями как этиловый спирт, ацетон. При разработке способов экстракции было изучено влияние продолжительности процесса и начального содержания субстрата в экстракционной смеси на степень извлечения жироподобных веществ из кофейного шлама.

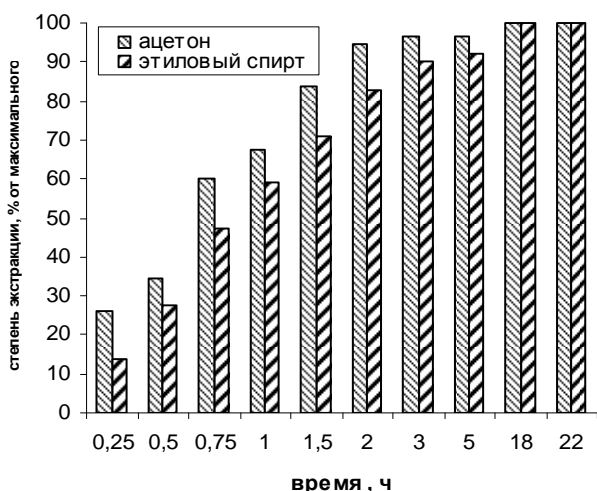


Рис. 1. Влияние продолжительности экстракции на степень извлечения жироподобных веществ из кофейного шлама (начальное содержание субстрата – 9,0 масс. %)

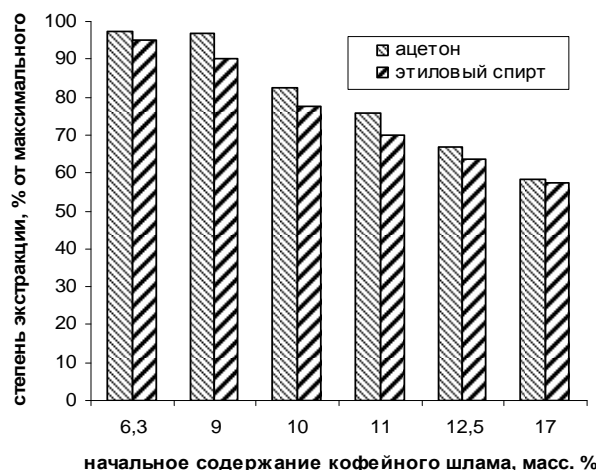


Рис. 2. Влияние начального содержания кофейного шлама на степень извлечения жироподобных веществ (продолжительность экстракции – 3 часа)

Установлено, что максимальная степень извлечения липидов из отходов производства растворимого кофе в ходе экстракции органическими растворителями (темпе-

ратура – 22-24 °С, непрерывное перемешивание с интенсивностью 60 об/мин, начальное содержание субстрата – 9,0 масс. %) достигается на 18 час процесса. Следует отметить, что при использовании в качестве экстрагента ацетона уже к 3 часу извлекается свыше 95 % жироподобных веществ кофейного шлама (рис. 1).

При исследовании влияния начального содержания кофейного шлама в экстракционной смеси на степень извлечения жироподобных веществ из кофейных отходов доказано, что максимальная степень экстракции органическими растворителями наблюдается при начальной концентрации субстрата не менее 9,0 масс. % (рис. 2).

Таким образом, для максимально полного извлечения липидов из кофейных отходов могут быть рекомендованы следующие условия: экстрагент – ацетон, начальное содержание кофейного шлама – 9,0 масс. %, продолжительность – 3 часа, что позволяет получить обезжиренный кофейный шлам и ценный дополнительный продукт – «сырой» экстракт кофейного

Таблица 2.

Характеристики обезжиренного кофейного шлама и «сырого» экстракта кофейного масла, полученных после экстракции ацетоном в подобранных условиях

Обезжиренный кофейный шлам	«Сырой» экстракт кофейного масла
«Сырая» клетчатка – 60,0-62,0 %	цвет – коричневый
Сырой протеин – 12,5-14,5 %	внешний вид – вязкая жидкость
Фенольные соединения – 2,65-3,15 %	аромат – кофейный
Фенольные соединения в экстракте – 0,265-0,275 г/л	плотность (25°С) – 836-849 кг/м ³
	кислотное число – 7,2-7,8 мг КОН/г
	pH (25°С) – 4,5-5,0

масла (табл. 2). Следует отметить, что характеристики полученного образца «сырого» экстракта кофейного масла удовлетворяют требованиям, предъявляемым к товарной форме кофейного масла, описанным в литературе [Паньковский Г.А., 2004].

Отбор микроорганизмов-деструкторов кофейного шлама

Следующий этап работы посвящен биотрансформации кофейного шлама. Поскольку обработка субстрата органическим растворителем могла сказаться на его питательной ценности, то отбор микроорганизмов-деструкторов кофейных отходов проводился при культивировании на питательных средах, содержащих как нативный, так и обезжиренный кофейный шлам. Микробную конверсию кофейного шлама осуществляли как твердофазным способом с использованием в качестве биодеструкторов грибных культур, так и глубинным – с использованием грибов и дрожжей.

Отбор микроорганизмов-деструкторов кофейного шлама при твердофазном культивировании

В качестве биодеструкторов кофейных отходов с учетом химического состава и литературных данных были отобраны культуры грибов, относящиеся к родам *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Pleurotus*, *Penicillium*, *Fusarium* и *Phanerochaete*, способные разрушать биополимеры кофейного шлама (целлюлозу, гемицеллюлозу и др.). Результаты исследований показали, что все отобранные штаммы грибов в ходе твердофазного культивирования способны усваивать компоненты как нативного, так и обезжиренного кофейного шлама. Лучшие результаты при культивировании на нативном кофейном шламе:

– по степени биодеструкции клетчатки наблюдаются при культивировании *Tr. viride* и *Asp. niger* – 73,0 и 71,0 %, соответственно;

– по накоплению биомассы – *Asp. niger*, *Asp. awamori* и *Tr. viride* – 135,0, 214,0 и 445,0 г/кг, соответственно;

– по содержанию сырого протеина в конечном продукте – 31,0 % в случае использования *Tr. viride* (табл. 3).

Таблица 3.

Ростовые характеристики грибов при их твердофазном культивировании на нативном кофейном шламе

Культура	Степень био- деструкции клетчатки, %	Линейная скорость роста, см/сутки	Накопление биомассы, г/кг	Содержание в биомассе, %	
				«сырая» клетчатка	сырой протеин
<i>Asp. flavus</i>	57,7±0,67	2,5	114,5±5,7	27,9±0,43	18,3±0,25
<i>Asp. niger</i>	71,0±0,45	2,3	135,0±6,0	19,4±0,34	20,3±0,24
<i>Asp. awamori</i>	67,0±0,47	1,6	214,0±10,0	21,6±0,38	23,9±0,26
<i>Pen. funiculosum</i>	64,7±0,50	1,0	85,7±4,1	24,9±0,40	19,3±0,22
<i>Pen. chrysogenum</i>	60,0±0,37	0,6	130,0±4,5	26,1±0,35	19,9±0,21
<i>Tr. viride</i>	73,0±0,30	2,3	445,0±13,0	17,0±0,25	31,0±0,30
<i>Tr. harsianum</i>	64,7±0,35	1,65	94,2±4,8	24,9±0,30	18,6±0,16
<i>Fus. poae</i>	55,9±0,39	0,15	110,5±3,9	28,0±0,32	18,6±0,17
<i>Fus. moniliforme</i>	53,6±0,71	0,2	131,0±4,0	30,1±0,53	18,0±0,22
<i>Fus. culmorum</i>	60,0±0,45	0,1	92,6±3,7	25,2±0,40	16,0±0,10
<i>Phan. chrysosporium</i>	53,5±0,77	3,1	78,0±2,6	30,6±0,62	16,7±0,15
<i>Pleurotus ostreatus</i>	36,2±0,65	0,1	12,8±0,28	45,0±0,72	15,0±0,16

Следует отметить, что при твердофазном культивировании грибов на обезжиренном кофейном шламе максимальное содержание белковых веществ в микробной биомассе также наблюдается при использовании штамма *Tr. viride*. Однако по сравнению с нативным кофейным шламом накопление сырого протеина снизилось и составило 23,0 % (табл. 4).

Таблица 4.

Ростовые характеристики грибов при их твердофазном культивировании на обезжиренном кофейном шламе

Культура	Степень био- деструкции клетчатки, %	Линейная скорость роста, см/сутки	Накопление биомассы, г/кг	Содержание в биомассе, %	
				«сырая» клетчатка	сырой протеин
<i>Asp. flavus</i>	55,0±0,54	2,7	140,0±10,0	28,2±0,33	18,5±0,25
<i>Asp. niger</i>	71,1±0,42	2,4	136,0±7,3	19,8±0,24	20,6±0,29
<i>Asp. awamori</i>	56,8±0,38	0,6	137,0±5,1	28,7±0,20	20,3±0,21
<i>Pen. funiculosum</i>	60,7±0,47	1,2	139,0±8,2	29,2±0,29	22,3±0,20
<i>Pen. chrysogenum</i>	57,5±0,62	0,6	100,5±5,4	27,1±0,25	18,0±0,27
<i>Tr. viride</i>	72,0±0,55	1,1	215,4±10,0	16,4±0,49	23,0±0,43
<i>Tr. harsianum</i>	62,0±0,46	1,4	146,4±7,3	25,0±0,27	20,0±0,22
<i>Fus. poae</i>	53,2±0,73	0,16	115,0±5,8	29,0±0,44	19,5±0,38
<i>Fus. moniliforme</i>	51,5±0,48	0,25	120,0±5,4	31,0±0,31	19,0±0,25
<i>Fus. culmorum</i>	56,0±0,54	1,0	85,4±2,6	26,3±0,35	15,5±0,35
<i>Phan. chrysosporium</i>	65,4±0,75	3,8	101,3±1,8	24,9±0,21	19,0±0,43
<i>Pleurotus ostreatus</i>	42,3±0,82	0,12	15,0±0,9	38,6±0,25	18,0±0,37

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что в случае твердофазного способа биоконверсии исследуемых отходов наиболее целесообразно использовать нативный кофейный шлам, а в качестве микробного деструктора – *Trichoderma viride*.

Отбор микроорганизмов-деструкторов кофейного шлама при глубинном культивировании

При исследовании биоконверсии нативного кофейного шлама глубинным гетерофазным способом при использовании ряда штаммов грибов степень биодеструкции клетчатки составила 60,0-70,0 % к 5 суткам роста (табл. 5).

Таблица 5.

Ростовые характеристики грибов при их глубинном культивировании на питательных средах, содержащих нативный кофейный шлам (50 г/л)

Культура	Степень биодеструкции клетчатки, %	Накопление биомассы, г/л	Содержание в биомассе, %	
			«сырая» клетчатка	сырой протеин
<i>Asp. flavus</i>	70,0±0,52	4,7±0,12	19,9±0,25	16,0±0,26
<i>Asp. niger</i>	44,0±0,92	4,8±0,15	39,2±0,67	17,1±0,30
<i>Asp. awamori</i>	45,8±0,80	5,7±0,13	33,2±0,65	18,0±0,24
<i>Pen. funiculosum</i>	58,0±0,60	3,0±0,10	20,7±0,33	16,0±0,25
<i>Pen. chrysogenum</i>	33,6±0,90	2,3±0,10	40,7±0,65	15,3±0,22
<i>Tr. viride</i>	64,0±0,55	4,2±0,13	22,1±0,38	17,5±0,28
<i>Tr. harsianum</i>	63,0±0,61	3,6±0,12	21,7±0,35	15,0±0,21
<i>Fus. poae</i>	38,5±0,70	2,2±0,10	38,8±0,60	14,4±0,23
<i>Fus. moniliforme</i>	23,3±0,93	1,9±0,10	47,3±0,70	14,7±0,20
<i>Fus. culmorum</i>	59,0±0,58	3,3±0,11	24,8±0,40	15,6±0,16
<i>Phan. chrysosporium</i>	58,0±0,60	3,5±0,12	26,1±0,38	15,2±0,21
<i>Pleurotus ostreatus</i>	36,0±0,75	3,7±0,14	38,0±0,55	16,8±0,26

В случае глубинного культивирования грибов на питательных средах, содержащих обезжиренный кофейный шлам, лучшие результаты по накоплению биомассы были выявлены при использовании *Asp. niger*, *Asp. flavus* и *Pleurotus ostreatus* и составили 23,2, 13,2 и 12,8 г/л, соответственно, тогда как наибольшее содержание сырого протеина характерно для биомассы, полученной при культивировании *Pen. funiculosum* – 29,0 %.

Таблица 6.

Ростовые характеристики дрожжей при их глубинном культивировании на питательных средах, содержащих предобработанный нативный кофейный шлам (50 г/л)

Культура	Накопление биомассы, г/л	μ, ч ⁻¹	сырой протеин, %
<i>Candida tropicalis</i>	5,4±0,25	0,06	21,6±0,22
<i>Candida utilis</i>	1,8±0,16	0,03	16,9±0,27
<i>Candida maltosa</i>	3,6±0,40	0,09	18,9±0,20
<i>Rhodotorula rubra</i>	6,7±0,65	0,10	21,1±0,23
<i>Yarrowia lipolytica</i>	6,6±0,50	0,10	21,1±0,22
<i>Torulopsis utilis</i>	1,8±0,15	0,03	17,1±0,19
<i>Torulopsis fumata</i>	Рост незначительный		
<i>S. cerevisiae SL-100</i>	Рост незначительный		
<i>S. cerevisiae "Я"</i>	Рост незначительный		
<i>S. cerevisiae II</i>	7,1±0,33	0,08	22,0±0,25
<i>S. cerevisiae XII</i>	Рост незначительный		
<i>S. carlsbergensis</i>	Рост незначительный		

на питательных средах, содержащих гидролизованный кофейный шлам. Предварительную обработку кофейного шлама с целью повышения его биодоступности для мик-

Поскольку дрожжи не обладают целлюлолитическими ферментами, но, согласно литературным данным, успешно используются для биоконверсии предобработанных субстратов с получением белково-углеводных продуктов, то в ходе работы была проведена сравнительная оценка роста дрожжей (родов *Saccharomyces*, *Candida*, *Torulopsis*, *Rhodotorula* и *Yarrowia*) при их глубинном гетерофазном культивировании

роорганизмов осуществляли кислотным гидролизом в модельных условиях при pH 2,0 и 112 °C в течение 30 минут (табл. 6). Лучшие результаты при культивировании на питательных средах, содержащих предобработанный нативный кофейный шлам, были выявлены для *Saccharomyces cerevisiae II*, *Candida tropicalis*, *Rhodotorula rubra* и *Yarrowia lipolytica*, максимальное накопление биомассы которых достигало 5,4-7,1 г/л, а содержание сырого протеина в конечном продукте – 21,1-22,0 %.

Следует отметить, что при использовании в качестве сырья обезжиренного кофейного шлама повышаются ростовые характеристики всех дрожжевых культур. При этом наибольшая степень биоконверсии кофейных отходов достигается при культивировании дрожжей *Saccharomyces cerevisiae II*: максимальное накопление биомассы составляет 15,5 г/л, а содержание сырого протеина в конечном продукте – 31,8 %.

Таким образом, при глубинном гетерофазном культивировании лучшие ростовые характеристики и качество продукта наблюдались в случае дрожжей *Saccharomyces cerevisiae II* при использовании в качестве субстрата обезжиренного кофейного шлама.

Повышение эффективности биоконверсии кофейных отходов при культивировании дрожжей на питательных средах, содержащих обезжиренный кофейный шлам, может быть обусловлено тем, что в них содержатся вещества, оказывающие негативное влияние на микроорганизмы, снижая тем самым скорость роста и качество образующейся биомассы. Большинство таких веществ кофейного шлама являются жирорастворимыми и, следовательно, переходят в экстракт при извлечении органическими растворителями. В связи с этим был исследован ростиингибирующий эффект «сырого» экстракта кофейного масла.

Повышение эффективности биоконверсии кофейных отходов при культивировании дрожжей на питательных средах, содержащих обезжиренный кофейный шлам, может быть обусловлено тем, что в них содержатся вещества, оказывающие негативное влияние на микроорганизмы, снижая тем самым скорость роста и качество образующейся биомассы. Большинство таких веществ кофейного шлама являются жирорастворимыми и, следовательно, переходят в экстракт при извлечении органическими растворителями. В связи с этим был исследован ростиингибирующий эффект «сырого» экстракта кофейного масла.

Исследование ростиингибирующего эффекта «антипитательных» веществ кофейного шлама

Антимикробную активность «сырого» экстракта кофейного масла по отношению к используемым в настоящей работе микробным культурам определяли диско-диффузионным методом. Исследования показали, что жироподобные вещества, содержащиеся в кофейном шлеме, оказывают токсическое влияние на большинство дрожжевых культур (табл. 8), в то время как для мицелиальных грибов этого выявлено не было. Следует отметить, что данные результаты согласуются с ранее полученными ростовыми характеристиками грибов и дрожжей при их культивировании как на нативном, так и на обезжиренном кофейном шлеме.

Таблица 7.
Ростовые характеристики дрожжей при их глубинном культивировании на питательных средах, содержащих предобработанный обезжиренный кофейный шлам (50 г/л)

Культура	Накопление биомассы, г/л	μ, ч ⁻¹	сырой протеин, %
<i>Candida tropicalis</i>	8,2±0,30	0,07	25,6±0,25
<i>Candida utilis</i>	3,5±0,23	0,05	18,7±0,22
<i>Candida maltosa</i>	5,8±0,45	0,09	20,2±0,19
<i>Rhodotorula rubra</i>	11,4±0,56	0,10	23,5±0,25
<i>Yarrowia lipolytica</i>	13,8±0,27	0,10	23,8±0,22
<i>Torulopsis utilis</i>	2,0±0,25	0,05	17,5±0,18
<i>Torulopsis fumata</i>	1,5±0,20	0,04	16,8±0,23
<i>S. cerevisiae SL-100</i>	6,3±0,31	0,05	22,7±0,25
<i>S. cerevisiae "Я"</i>	3,7±0,22	0,05	18,5±0,20
<i>S. cerevisiae II</i>	15,5±0,45	0,10	31,8±0,27
<i>S. cerevisiae XII</i>	3,0±0,27	0,05	16,5±0,24
<i>S. carlsbergensis</i>	4,1±0,32	0,04	19,4±0,25

Таблица 8.

Антимикробная активность «сырого» экстракта кофейного масла в отношении дрожжей

Чувствительность к действию кофейного масла		
чувствительные	малочувствительные	устойчивые
<i>S. cerevisiae</i> "Я"	<i>Candida utilis</i>	<i>Rhodotorula rubra</i>
<i>S. cerevisiae</i> XII	<i>Candida tropicalis</i>	<i>Yarrowia lipolytica</i>
<i>S. cerevisiae</i> SL-100	<i>Candida maltosa</i>	<i>Torulopsis utilis</i>
	<i>S. cerevisiae</i> II	<i>Torulopsis fumata</i>
	<i>S. carlsbergensis</i>	

Спектрофотометрический анализ «сырого» экстракта кофейного шлама показал наличие максимума поглощения в ультрафиолетовой области при 271-273 нм, что соответствует таким соединениям, как танин и кофеин, содержащихся в кофейных зернах, а также, согласно литературным данным, в кофейных отходах.

Таким образом, для реализации эффективной технологии биоконверсии кофейных отходов с использованием в качестве посевного материала дрожжей обязательной является стадия выделения «сырого» экстракта кофейного масла не только с целью получения ценного дополнительно продукта, но и для снижения ростингибирующего эффекта «антипитательных» веществ кофейного шлама.

Интенсификация биодеструкции кофейного шлама предварительным гидролизом субстрата

Поскольку кофейный шлам является лигноцеллюлозным отходом (содержание клетчатки 55,0 %), одним из способов повышения эффективности его биокон-

Таблица 9.

Ростовые характеристики *Saccharomyces cerevisiae* II при культивировании на питательных средах, содержащих предобработанный кислотным гидролизом кофейный шлам

Кофейный шлам	pH	Температура обработки, °C	Концентрация субстрата, г/л	Общие сахара в гидролизате, г/кг	Накопление биомассы		Сырой протеин, %
					г/л	г/г	
нативный	0,5	112	50	320±15,0	10,0±0,31	0,20	17,6±0,25
		121		390±16,2	13,6±0,25	0,27	21,5±0,20
	0,8	112	50	290±14,3	12,1±0,27	0,24	19,2±0,24
		121		370±16,5	17,0±0,30	0,34	25,3±0,25
	1,0	112	50	270±13,0	16,5±0,22	0,33	22,6±0,25
		121		380±15,0	19,3±0,75	0,39	29,1±0,37
	1,5	112	50	260±11,4	15,2±0,20	0,30	22,9±0,23
		121		350±13,2	17,7±0,34	0,35	25,6±0,22
	2,0	112	50	64±3,7	7,1±0,33	0,14	22,0±0,25
		121		90±5,0	10,2±0,30	0,20	24,0±0,25
	2,5	112	50	63±3,1	5,4±0,27	0,10	14,3±0,19
		121		80±4,0	5,6±0,28	0,11	14,6±0,20
	1,0	121	30	370±14,5	11,7±0,48	0,39	28,8±0,23
	1,0	121	50	380±15,0	19,3±0,75	0,39	29,1±0,37
	1,0	121	70	390±14,7	27,0±0,50	0,38	28,4±0,25
	1,0	121	100	360±16,0	36,1±0,55	0,36	27,5±0,20
1,0	121	130	300±15,0	37,7±0,41	0,29	26,7±0,26	
1,0	121	160	260±13,2	35,2±0,45	0,22	23,3±0,30	
1,0	121	200	204±10,4	30,0±0,38	0,15	19,4±0,23	
обезжиренный	1,0	121	30	575±15,0	18,3±0,43	0,61	48,0±0,28
	1,0	121	50	580±20,0	29,7±0,33	0,60	47,7±0,25
	1,0	121	70	570±10,5	40,5±0,25	0,58	46,5±0,23
	1,0	121	100	520±13,8	59,3±0,52	0,59	45,8±0,18
	1,0	121	130	500±16,3	50,6±0,48	0,39	39,2±0,20

версии является предварительное расщепление биополимеров до легкоусваиваемых низкомолекулярных соединений. Сравнительная оценка способов предобработки как нативного, так и обезжиренного кофейного шлама с помощью ферментативного и кислотного гидролиза показала, что наиболее эффективен химический гидролиз. При этом установлено, что оптимальными условиями кислотного гидролиза как нативного, так и обезжиренного кофейного шлама являются pH 1,0, концентрация субстрата не более 100 г/л, температура 121 °С, о чем свидетельствуют содержание общих сахаров в полученных гидролизатах (нативный шлам – 360-390 г/кг, обезжиренный шлам – 520-580 г/кг) и показатели роста дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* II при их глубинном гетерофазном культивировании – выход биомассы: нативный шлам – 0,36-0,39 г/г, обезжиренный – 0,58-0,61 г/г (табл. 9).

Снижение ростиингибирующего эффекта «антипитательных» веществ кофейного шлама

Кофейный шлам содержит «антипитательные» вещества, удаление которых может быть достигнуто экстракционной обработкой органическим растворителем. Однако для их полного извлечения необходимо проведение многократной экстракции или увеличение продолжительности процесса, что является экономически невыгодным. Подобранный ранее режим экстракции (экстрагент – ацетон, продолжительность – 3 часа, начальное содержание субстрата – 9,0 масс. %) позволяет снизить количество «антипитательных» веществ, но не избавиться от них полностью. В связи с этим для повышения эффективности переработки кофейных отходов был проведен поиск альтернативных способов снижения токсического эффекта «антипитательных» веществ кофейного шлама.

Снижение ростиингибирующего эффекта «антипитательных» веществ кофейного шлама введением в питательную среду специфических соединений

Для устранения угнетающего влияния «антипитательных» веществ кофейного шлама было исследовано введение в питательные среды таких соединений как поливинилпирролидон и дигидрохверцетин, которые, согласно литературным данным, используются для защиты клеток от фенольных соединений.

Таблица 10.

Влияние введения в питательные среды поливинилпирролидона и дигидрохверцетина на ростовые характеристики дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* II

Показатели	кон- троль	Поливинилпирролидон, г/л			Дигидрохверцетин, г/л		
		0,01	0,1	1,0	0,01	0,1	1,0
Накопление биомассы, г/л	19,3±0,75	21,1±0,50	22,9±0,33	26,8±0,35	21,5±0,41	22,6±0,25	23,4±0,39
μ, ч ⁻¹	0,12	0,12	0,13	0,14	0,12	0,13	0,13
«Сырая» клетчатка, %	20,0±0,23	20,2±0,19	19,3±0,25	16,7±0,16	19,7±0,20	18,9±0,19	16,4±0,22

Результаты исследований по влиянию поливинилпирролидона и дигидрохверцетина на ростовые характеристики дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* II при культивировании на гидролизованном нативном кофейном шламе показали, что они снижают ростиингибирующий эффект «антипитательных» веществ субстрата, о чем свидетельствует увеличение максимального накопления биомассы на 17,5 % при использовании дигидрохверцетина и на 28,0 % в случае добавления поливинилпирро-

лидона (табл. 10). При культивировании на гидролизованном обезжиренном кофейном шламе введение в питательные среды поливинилпирролидона и дигидрохверцетина не оказало видимого влияния на ростовые характеристики *Saccharomyces cerevisiae II*.

Однако требуемые количества поливинилпирролидона и дигидрохверцетина (1,0 г/л) при введении в питательные среды снижают экономическую эффективность процесса, приводя к существенному повышению себестоимости конечного продукта.

Снижение ростингибирующего эффекта «антипитательных» веществ кофейного шлама направленной адаптацией микроорганизмов к компонентам субстрата на стадии подготовки посевного материала

Ростингибирующий эффект «антипитательных» веществ субстрата может быть снижен направленной адаптацией микроорганизмов на стадии подготовки посевного материала. Адаптацию проводили многократными последовательными пересевами дрожжей *Saccharomyces cerevisiae II* на среды, содержащие гидролизованный как нативный, так и обезжиренный кофейный шлам, при начальной концентрации субстрата 50 г/л.

В результате адаптации к компонентам нативного кофейного шлама к 5 пассажу повысилась удельная скорость роста микроорганизмов и выход биомассы с 0,12 до 0,14 ч⁻¹ и с 0,38 до 0,48 г/г (с 19,3 до 24,2 г/л), соответственно. Также наблюдалось увеличение содержания сырого протеина с 29,1 до 39,8 % (рис. 3, табл. 11).

В случае проведения адаптации дрожжевого штамма *Saccharomyces cerevisiae II* в отношении обезжиренного кофейного шлама лучшие результаты достигались в 4 пассаже, при этом максимальное накопление биомассы и удельная скорость роста увеличились на 7,0 и 12,5 %, и составили 31,8 г/л и 0,16 ч⁻¹, соответственно (рис. 4, табл. 11).

Было отмечено, что проведение адаптации дрожжей *Saccharomyces cerevisiae II* к компонентам кофейных отходов позволяет получить субпопуляцию, практически устойчивую к «антипитательным» веществам кофейного шлама.



Рис. 3. Адаптация дрожжей *Saccharomyces cerevisiae II* к компонентам гидролизованного нативного кофейного шлама

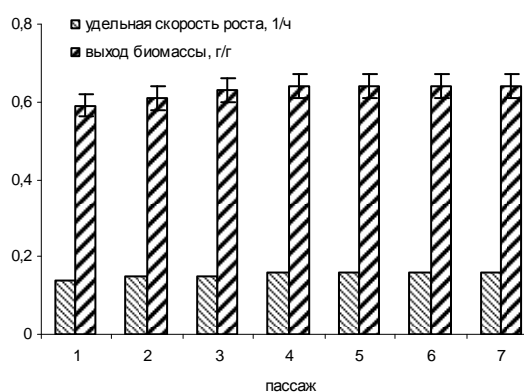


Рис. 4. Адаптация дрожжей *Saccharomyces cerevisiae II* к компонентам гидролизованного обезжиренного кофейного шлама

Однако при пересеве дрожжей *Saccharomyces cerevisiae II*, адаптированных к кофейным отходам, на стандартные углеводсодержащие жидкие/твердые питательные среды стимулирующий эффект, достигнутый в ходе адаптации, утрачивается.

Таблица 11.

Ростовые характеристики дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* II и состав белково-углеводных кормовых добавок, получаемых биоконверсией кофейного шлама (50 г/л)

Показатели	Исходный кофейный шлам		Обезжиренный кофейный шлам	
	Неадаптированная культура	Адаптированная культура	Неадаптированная культура	Адаптированная культура
Накопление биомассы, г/л	19,3±0,75	24,2±0,46	29,7±0,33	31,8±0,25
μ , ч ⁻¹	0,12	0,14	0,14	0,16
Время генерации, ч	5,8	4,9	5,3	4,3
Сырой протеин, %	29,1±0,37	39,8±0,22	47,7±0,25	49,0±0,27
Истинный белок, %	23,0±0,25	31,7±0,31	37,2±0,22	38,6±0,19
«Сырая» клетчатка, %	20,0±0,23	16,5±0,19	8,1±0,25	7,6±0,16
Фенольные соединения, %	2,7±0,20	1,2±0,15	1,2±0,10	1,0±0,08

Таким образом, для осуществления биоконверсии кофейных отходов на стадии подготовки посевного материала следует проводить 4-5-кратное пассивирование дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* II на питательные среды, содержащие кофейный шлам.

Исследование влияния режимов культивирования на эффективность переработки обезжиренного кофейного шлама и качество продукта

Отработку режимов культивирования осуществляли в лабораторном ферментере (объем 5 л, заполнение на 70 %). Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что при использовании дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* II в процессе биоконверсии кофейных отходов возможно использование как отъемно-доливного, так и непрерывного способов культивирования. Вымывания дрожжей не наблюдается в отъемно-доливном режиме при 14,0 % (об.) отъема культуральной жидкости в час, а в случае непрерывного режима – при скорости протока 0,14 ч⁻¹, при этом содержание сырого протеина и истинного белка составляют 48,0 и 46,7, 37,8 и 36,6 %, соответственно (табл. 12).

Таблица 12.

Характеристики процессов биоконверсии обезжиренного кофейного шлама (50 г/л) дрожжами *Saccharomyces cerevisiae* II при различных режимах глубинного культивирования (А – периодическое; Б – отъемно-доливное; В – непрерывное)

Характеристики	А	Б	В
μ , ч ⁻¹	0,16	0,14*	0,14**
Накопление биомассы, г/л	31,8±0,25	29,5±0,22	29,2±0,20
Состав биомассы, %			
• сырой протеин	49,0±0,27	48,0±0,31	46,7±0,22
• истинный белок	38,6±0,19	37,8±0,23	36,6±0,16

* – доля отъема культуральной жидкости каждый час

** – скорость протока культуральной жидкости

Таким образом, для получения белково-углеводной кормовой добавки на основе кофейных отходов, рекомендуется гетерофазное культивирование дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* II в отъемно-доливном режиме.

Концентрирование и сушка биомассы

В связи с использованием глубинного гетерофазного культивирования дрожжей наиболее целесообразным и перспективным способом концентрирования полученной биомассы является фильтрация [Панфилов В.И., 2004 г]. В ходе исследования эффек-

тивность фильтрующих материалов оценивали по таким технологическим параметрам как удельная скорость фильтрации (G) и степень пропускания клеток фильтром (П).

Проведенные эксперименты по подбору фильтрующего материала показали, что применение капронового фильтра и бельтинга позволяют достичь наиболее высоких показателей фильтруемости микробной суспензии, при этом скорость фильтрации составляет 390 и 542 л/(м²·ч), соответственно, а степень пропускания клеток – менее 1,0 % (табл. 13).

Таблица 13.

Подбор фильтрующих материалов для концентрирования биомассы

Фильтрующий материал	Скорость фильтрации, G, л/(м ² ·ч)	Степень пропускания клеток, П, %
Бумажный фильтр	227	<0,01
Бельтинг	542	0,52
Капроновый фильтр (d = 40 мкм)	138	2,3
Капроновый фильтр (d = 50 мкм)	390	0,23
Фильтр PX 315-07	200	0,48
Фильтр PX 339-07	222	2,1
Фильтр NPX 700-41	191	5,77

Следует отметить, что полученный таким образом концентрат биомассы может быть отправлен на сушку без применения дополнительных методов концентрирования. В ходе исследований также установлено, что образующийся на стадии концентрирования фильтрат культуральной жидкости может быть повторно использован для приготовления питательной среды в количестве до 70 % в ходе не менее 5 последовательных пассажей без видимого снижения ростовых характеристик дрожжей *Saccharomyces cerevisiae II*.

Технологическая схема комплексной переработки кофейного шлама в «сырой» экстракт кофейного масла и белково-углеводную кормовую добавку

На основе проведенных исследований разработана принципиальная блок-схема комплексной переработки кофейного шлама в «сырой» экстракт кофейного масла и белково-углеводную кормовую добавку, предусматривающая:

- экстракцию жироподобных веществ из кофейного шлама органическим растворителем;
- упаривание экстракта до получения «сырого» экстракта кофейного масла;
- предобработку обезжиренного кофейного шлама кислотным гидролизом;
- подготовку посевного материала многократным пассивированием дрожжей *Saccharomyces cerevisiae II* на среды, содержащие кофейный шлам;
- глубинное гетерофазное культивирование дрожжей *Saccharomyces cerevisiae II* в отъемно-доливном режиме;
- концентрирование биомассы фильтрацией и сушку (рис. 5).

Технико-экономические параметры биоконверсии кофейных отходов мощностью 10 000 т/год по объему перерабатываемого кофейного шлама в белково-углеводную кормовую добавку с содержанием сырого протеина не менее 49,0 % при одновременном получении «сырого» экстракта кофейного масла приведены в табл. 14.

Предварительный расчет эколого-экономического эффекта от внедрения разработанной технологии с выбранной мощностью показал, что за счет снижения платежей за размещение отходов экономия предприятия составит более 7,5 млн. руб.

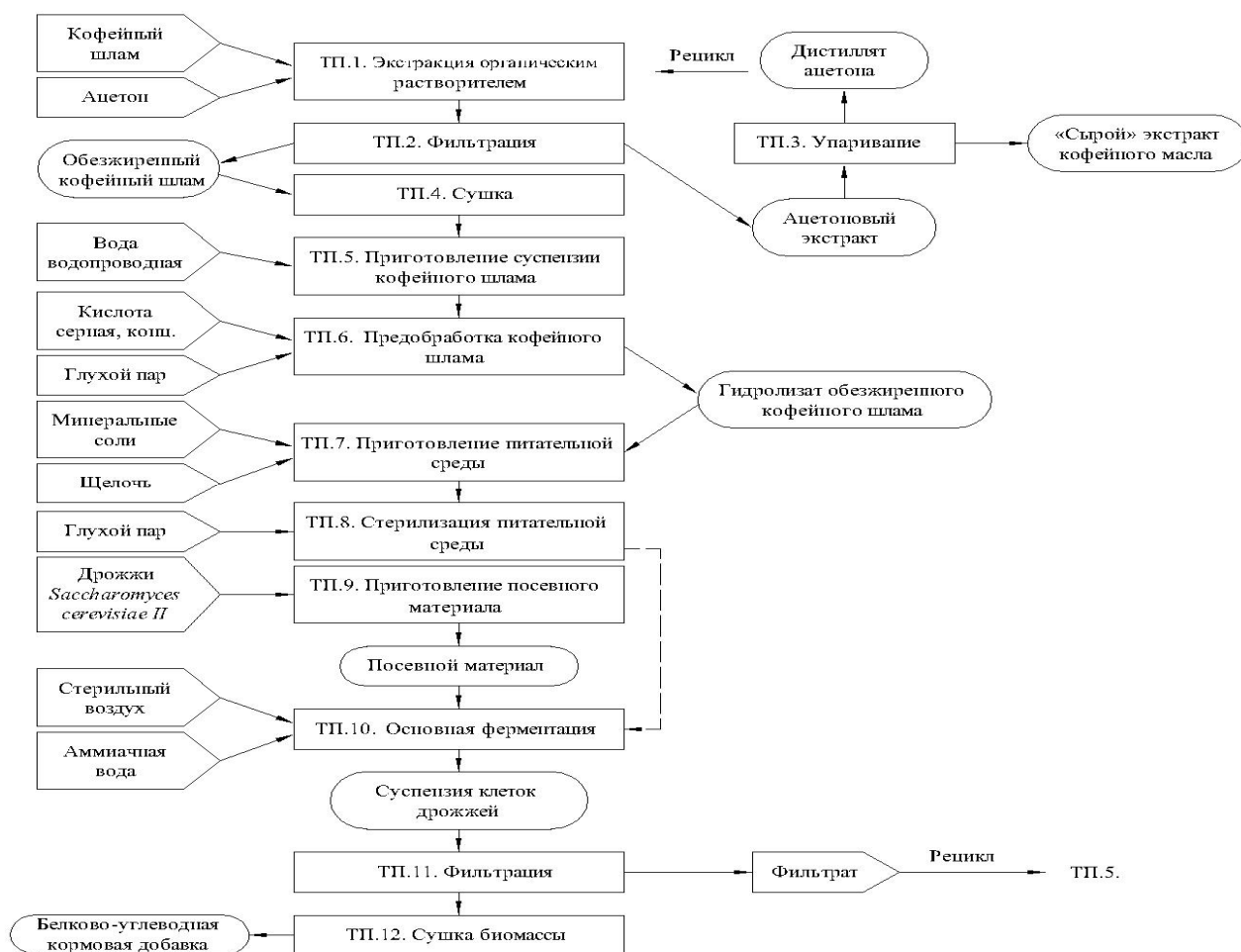


Рис. 5. Принципиальная блок-схема, включающая основные стадии технологического процесса (ТП) комплексной переработки кофейного шлама в «сырой» экстракт кофейного масла и белково-углеводную кормовую добавку

Таблица 14.

Технико-экономические показатели комплексной переработки кофейного шлама в белково-углеводную кормовую добавку и «сырой» экстракт кофейного масла

№ п/п	Наименование показателя	Единица измерения	Значение показателей
1	Годовой выпуск продукции		
	а) в натуральном выражении		
	• белково-углеводная кормовая добавка	т	5362
	• «сырой» экстракт кофейного масла	т	1060
б) в оптовых ценах			
	• белково-углеводная кормовая добавка	тыс. руб. за т	13,0
	• «сырой» экстракт кофейного масла	тыс. руб. за т	400
2	Капитальные затраты	тыс. руб.	95962,47
3	Полная себестоимость годового выпуска	тыс. руб.	126567,55
4	Себестоимость единицы продукции		
	• белково-углеводная кормовая добавка	тыс. руб. за т	3,33
	• «сырой» экстракт кофейного масла	тыс. руб. за т	104,0
5	Стоимость годового выпуска продукции	тыс. руб./т	493706,00
6	Прибыль годовая	тыс. руб.	367138,45
7	Рентабельность:		
	а) производственных фондов	%	58,2
	б) продукции	%	74,0
8	Срок окупаемости капитальных вложений	год	1,57

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ

1. Разработана стадия экстракционного извлечения из кофейных отходов жироподобных веществ органическим растворителем (экстрагент – ацетон, продолжительность – 3 часа, начальное содержание субстрата – 9,0 масс. %), позволяющая получить обезжиренный кофейный шлам и «сырой» экстракт кофейного масла. При исследовании антимикробной активности «сырого» экстракта кофейного масла показано, что жироподобные вещества, содержащиеся в кофейном шламе, оказывают угнетающее влияние на рост большинства дрожжевых культур и не оказывают подобного влияния на мицелиальные грибы.

2. Разработан способ кислотного гидролиза кофейного шлама (рН 1,0, концентрация субстрата не более 100 г/л, температура 121 °С), повышающий биологическую ценность кофейных отходов. Так, при культивировании дрожжей *Saccharomyces cerevisiae II* на питательных средах, содержащих гидролизованный нативный и обезжиренный кофейный шлам, максимальное накопление биомассы и содержание сырого протеина составляют 19,3 г/л и 29,1 %, 29,7 г/л и 47,7 %, соответственно.

3. Показана возможность получения белково-углеводной кормовой добавки на основе кофейных отходов:

- твердофазным культивированием *Trichoderma viride* на нативном кофейном шламе – содержание сырого протеина в конечном продукте достигает 31,0 %;
- глубинным гетерофазным культивированием дрожжей *Saccharomyces cerevisiae II* при использовании гидролизованного нативного кофейного шлама – содержание сырого протеина в конечном продукте достигает 39,8 %;
- комплексной переработкой кофейного шлама, включающей экстракционное извлечение «антипитательных» веществ ацетоном с получением дополнительного продукта – «сырого» экстракта кофейного масла, кислотный гидролиз целлюлозосодержащих компонентов обезжиренного кофейного шлама, и последующее глубинное гетерофазное культивирование дрожжей *Saccharomyces cerevisiae II* – содержание сырого протеина в конечном продукте достигает 49,0 %.

4. Показано, что ростигибирующий эффект «антипитательных» веществ кофейного шлама может быть снижен:

- введением в питательные среды специфических веществ, таких как поливинилпирролидон и дигидрокверцетин;
- направленной адаптацией микроорганизмов к компонентам кофейного шлама на стадии подготовки посевного материала.

5. Предварительная технико-экономическая оценка реализации разработанной комплексной технологии переработки кофейного шлама при расчетной мощности производства 10000 т в год по перерабатываемому сырью позволит получить свыше 5000 т белково-углеводной кормовой добавки и 1000 т «сырого» экстракта кофейного масла. Полная себестоимость годового выпуска продукции составит 127 млн. руб., годовая прибыль – 360 млн. руб. Расчет эколого-экономического эффекта от внедрения разработанной технологии показал, что за счет снижения платежей за размещение отходов в пределах лимита экономия предприятия составит более 7,5 млн. руб.

Основные результаты диссертации изложены в следующих работах:

1. Башашкина, Е. В. Использование кофейного шлама в качестве сырья для получения белковой кормовой добавки / Е. В. Башашкина, И. В. Шакир, Н. А. Суясов, В. И. Панфилов // Химическая промышленность сегодня. – 2010. – № 6. – с. 28-33.
2. Башашкина, Е. В. Интенсификация процесса биоконверсии отходов пищевой промышленности в дрожжевую биомассу кормового назначения / Е. В. Башашкина, В. Д. Смирнова, И. В. Балакирев, Н. А. Суясов, И. В. Шакир, В. И. Панфилов // Химическая промышленность сегодня. – 2010. – № 8. – с. 10-15.
3. Башашкина, Е. В. Биоконверсия отходов производства растворимого кофе в продукты кормового назначения / Е. В. Башашкина, И. В. Шакир, Н. А. Суясов, В. И. Панфилов // Экология и промышленность России. – 2010. – №1. – с. 18-19.
4. Патент РФ № 2393719. Способ получения биомассы кормовых дрожжей / Е. В. Башашкина, В. И. Панфилов, И. В. Шакир, Н. А. Суясов, А. А. Пашинин. – № 2008122535/13; заявлено 06.06.2008; опубликовано 10.07.2010. Бюл. № 19, 5 с.
5. Башашкина, Е. В. Кофейный шлам как сырье для получения кормовой добавки / Е. В. Башашкина, Н. А. Суясов // IV Международный конгресс молодых ученых по химии и химической технологии «МКХТ-2008». – с. 71-72.
6. Башашкина, Е. В. Кофейный шлам как сырье для получения кормовой добавки / Е. В. Башашкина, Е. А. Пашинина, И. В. Шакир, Н. А. Суясов // Всероссийская научно-техническая конференция «Наука-производство-Экология». – Киров. – 2008. – с. 240-242.
7. Башашкина, Е. В. Переработка отходов производства кофе в кормовые белковые продукты / Е. В. Башашкина, Н. А. Суясов, И. В. Шакир // V Московский Международный Конгресс «Биотехнология: Состояние и перспективы развития». – 2009. – с. 389-390.
8. Башашкина, Е. В. Биоконверсия отходов производства кофе в биомассу кормового назначения / Е. В. Башашкина, Н. А. Суясов, И. В. Шакир, В. И. Панфилов // Всероссийская научно-техническая конференция «Наука-производство-Экология». – Киров. – 2009. – с. 102.
9. Башашкина, Е. В. Культивирование дрожжей на гидролизатах кофейного шлама с целью получения кормовой добавки / Е. В. Башашкина // Хранение и переработка сельскохозяйственной продукции, Россельхозакадемия. – 2009. – с. 62- 65.
10. Башашкина, Е. В. Использование кофейного шлама для культивирования грибных культур / Е. В. Башашкина, Н. А. Суясов, И. В. Шакир, В. И. Панфилов // VI Московский Международный Конгресс «Биотехнология: Состояние и перспективы развития». – 2010. – с. 217-218.
11. Башашкина, Е. В. Исследование автохтонной микрофлоры кофейного шлама / Е. В. Башашкина, А. О. Жигалова, В. И. Панфилов, И. В. Шакир, Н. А. Суясов // Всероссийская научно-техническая конференция «Наука-производство-Экология». – Киров. – 2010. – с. 53-55.
12. Башашкина, Е. В. Использование кофейного шлама для получения кофейного масла и микробной кормовой добавки / Е. В. Башашкина, Н. А. Суясов, И. В. Шакир // 8-я Международная конференция «Сотрудничество для решения проблемы отходов». – Харьков, Украина. – 2011. – с. 45.

Бауф.