



УКРАЇНА

(19) UA (11) 38551 (13) A

(51) 7 C12N1/12, A61K35/80

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ  
НА ВИНАХІДвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ЛІКАРСЬКОЇ СУБСТАНЦІЇ МІКРОВОДОРОСТІ *SPIRULINA PLATENSIS*

(21) 2000074459

(22) 25.07.2000

(24) 15.05.2001

(33) UA

(46) 15.05.2001, Бюл. № 4, 2001 р.

(72) Будзай Іван Гнатович, Шнюкова Єлизавета  
Іллінчна, Купраш Ліліана Петрівна, Мальчин Юрій  
Макарович, Багатирчук Леонід Миколайович(73) Будзай Іван Гнатович, Шнюкова Єлизавета  
Іллінчна, Купраш Ліліана Петрівна, Мальчин Юрій  
Макарович, Багатирчук Леонід Миколайович

(57) Спосіб одержання лікарської субстанції мікрородорості *Spirulina platensis*, який полягає у тому, що мікрородорість висівають на живильне середовище, культивують її, при цьому здійснюють барботування біомаси повітрям та її освітлення, потім біомасу збирають та досліджують на вміст білків, який **відрізняється** тим, що біомасу контролюють на альгологічну і мікробіологічну чистоту, а також додатково досліджують на вміст каротині-їдів, причому біомасу контролюють та досліджують при висіві, культивуванні та зборі постійно.

Винахід відноситься до біотехнології, зокрема - до вирощування мікрородоростей, які використовуються для виготовлення лікарських препаратів.

*Spirulina platensis* (спіруліна) - синьо-зелена водорість, з якої виготовляють біологічно - активні харчові домішки або сировину для виготовлення лікарських препаратів, косметичних засобів тощо.

Фармакологічна активність спіруліни обумовлена взаємодією комплексу біологічно-активних речовин, які входять до її складу (білки, амінокислоти, вітаміни, макро- та мікроелементи), необхідні співвідношення яких забезпечуються відповідними умовами вирощування, контролю та зберігання водоростей.

Відомий "Спосіб получения микроводорослей, образующих метаболиты" (див.: М.з. №94/07993, C12N1/12, A01G33/00, публ. ИСМ, вып. 46, № 7, 1995), який передбачає культивування мікрородоростей, їх концентрацію, забезпечує накопичення метаболітів. Для культивування використовують зменшені об'єми до 1/5 від прийнятих для одержання біомаси водоростей, що саме і сприяє накопиченню метаболітів.

Однак спосіб не передбачає одержання мікрородоростей, які були б придатні за складом біологічно активних речовин та мікробіологічною чистотою для застосування у лікарських препаратах.

Відомий "Спосіб культивування синьо-зеленої водорості *spirulina platensis*" (див.: Патент UA № 10253, C12N1/12, опубл. ПВ, № 4, 1996), який передбачає барботування суспензії водоростей у водному живильному середовищі та періодичний відбір біомаси. Живильне середовище готують на

джерельній воді. Використовують мінеральне живильне середовище Заррука. Крім того, процес культивування передбачає підтримання необхідної температури та режиму освітлювання. Відібрану біомасу промивають, а живильний розчин після цього використовують повторно для подальшого культивування мікрородоростей.

Відомий спосіб дозволяє вирощувати спіруліну, однак не передбачає постійного контролю біохімічного складу та мікробіологічної чистоти, що, в свою чергу, обмежує використання такої спіруліни для клінічного застосування як лікарського препарату.

За прототип обрано "Способ культивирования микроводорослей" (див.: Патент SU №1806184, C12N1/12, публ. БИ, № 12, 1993), який передбачає висів мікрородоростей (зокрема, спіруліну) на живильне середовище, яке вміщує ізотопи, вирощування при інтенсивному освітленні та постійному барботуванні суспензії повітрям, дослідженні зібраної біомаси на білок, вільні амінокислоти, нуклеїнові кислоти, пігменти, ліпіди, вуглеводи.

Спосіб за прототипом дозволяє одержати біомасу водоростей, яка містить мічені азотвміщуючі сполучення. Така біомаса застосовується для вивчення просторової структури природних молекул, їх інформаційних перетворень та в медичній діагностиці.

Однак спосіб не передбачає можливості вирощування біомаси мікрородоростей, придатної для застосування як лікарського препарату, тому, що не забезпечує необхідний баланс біологічно активних речовин у її складі та мікробіологічну

чистоту. Тому такий спосіб не є технологічним циклом, за яким можна одержувати саме лікарську субстанцію з мікроводоростей, зокрема *Spirulina platensis*.

В основу винаходу поставлено задачу здійснити технологічний цикл одержання лікарської субстанції мікроводорості *Spirulina platensis* із забезпеченням постійного контролю за активністю та якістю біомаси.

Задача вирішується тим, що спосіб одержання лікарської субстанції мікроводорості *Spirulina platensis*, який полягає у тому, що мікроводорості висівають на живильне середовище, культивують й, при цьому здійснюють барботування біомаси повітрям та й освітлення, потім біомасу збирають та досліджують на вміст білків, згідно з винаходом, біомасу контролюють на альгологічну і мікробіологічну чистоту, а також додатково досліджують на вміст каротиноїдів, причому біомасу контролюють та досліджують при висіві, культивуванні та зборі постійно.

Мікроводорості *Spirulina platensis* висівають на живильне середовище (як правило, живильне мінеральне середовище Заррука) із застосуванням джерельної води. Для висіву використовують маточну культуру мікроводорості *Spirulina platensis*, зокрема, із колекції мікроводоростей Інституту ботаніки НАН України.

Культивують мікроводорості у басейнах за умови підтримки необхідних температури та освітлення, оскільки *Spirulina platensis* є термофільна мікроводорість, вона адаптована до високої температури та активного сонця. Культивування здійснюють протягом вегетаційного періоду, як правило, при температурі 26-28°C. Приміщення забезпечується системами обміну повітрям. Це забезпечує постійний приток свіжого повітря.

Клітини мікроводоростей, що розташовані у поверхневому шарі біомаси, інтенсивно поглинають світлову енергію. Щільність біомаси не дозволяє рівномірно освітлювати товщу мікроводоростей, які поступово осідають на дно басейну, що погіршує їх живлення, освітлення та веде до забелі біомаси. Тому товщу біомаси продувають повітрям, тобто здійснюють барботування, що забезпечує небуране перемішування біомаси та її рівномірне освітлення.

Збір біомаси здійснюють, коли на поверхні басейну з'являється плівка синьо-зеленого кольору.

При висіві, культивуванні та зборі біомаси постійно слідкують за її альгологічною та мікробіологічною чистотою, тобто контролюють ці показники. Це роблять для того, щоб уникнути її зараження іншими видами водоростей. Такий контроль дозволяє виявляти відхилення від норм, регламентованих технологічним процесом. В разі забруднення біомаси іншими видами водоростей її знищують.

При висіві, культивуванні та зборі біомасу постійно досліджують на вміст білків та каротиноїдів і тим самим забезпечують контроль її якості. Контроль за вмістом білків та каротиноїдів дозволяє відбирати біомасу, яка відповідає вимогам якості *Spirulina platensis* як лікарської субстанції.

Усе це дозволяє отримати біомасу, яка відповідає вимогам одержання нестерильних лікарських засобів.

Таким чином, перелічені ознаки та їх сукупність складають технологічний цикл одержання саме лікарської субстанції мікроводорості *Spirulina platensis* із забезпеченням відповідного постійного контролю за її активністю та якістю.

Спосіб здійснюють так. Для вирощування спіруліни в теплицях використовують басейни прямокутної форми (ширина 2 м, глибина до 30 см, довжина - в залежності від розмірів теплиць), виготовлені з металу, шиферу або бетону. Поверхня басейну, яка контактує з біомасою, вистилається поліетиленовою харчовою плівкою (ГОСТ 10354-82). Живильним середовищем є живильна мінеральна середа Заррука. Використовують джерельну воду. Середу для культивування роблять безпосередньо у кожному басейні. Для висіву використовують маточну культуру синьо-зеленої водорості *Spirulina platensis* з колекції мікроводоростей Інституту ботаніки НАН України або інших колекцій. На 1000 л живильної середи вносять 150-200 л суспензії водоростей із щільністю 0,5-0,7 г сухої маси в літрі. Освітлення водоростей - природне. Товща слою суспензії не повинна перевищувати 15 см тому, що на глибині 2-5 см залежно від щільності суспензії освітлення недостатнє. Підтримується температура біомаси 26-28°C. Для оновлення повітря у приміщенні теплиці встановлюють витяжні вентилятори тощо, які забезпечують обмін повітря 2-2,5 рази впродовж часу. Під час культивування біомаса перемішується механічним шляхом або барботуванням. Збір біомаси здійснюють після досягнення стаціонарної фази розвитку. Візуально на можливість збору водоростей указує появлення на поверхні водного шару басейна їх густої плівки синьо-зеленого кольору.

При висіві, культивуванні та зборі біомаси постійно (наприклад, щодобово) контролюють її загальновідомими методами на альгологічну та мікробіологічну чистоту. Так, у 1 г біомаси допускається наявність не більш ніж 10000 бактерій, не більш 200 дріжджових та пліснявих грибів, не більш ніж 100 інших бактерій сімейства Enterobacteriaceae. Не допускається наявність бактерій *Escherichia coli* та *Salmonella*. У 10 г біомаси не допускається наявність бактерій сімейства *Staphylococcus aureus* та *Pseudomonas aeruginosa*. Виявлення випадків підвищення мікробіологічного забруднення біомаси у процесі її культивування дозволяє вжити заходи (видалення осадових мулових забруднень, покращення якості промивання біомаси тощо), що призводить до суттєвого зниження ступеню бактеріального забруднення, наприклад, на один порядок.

Крім того, біомасу також постійно (наприклад, щоденно) досліджують загальновідомими методами на вміст білків та каротиноїдів. Вміст білка має бути не менш 45%, а вміст каротиноїдів - не менш 30 мг%.

Густу біомасу з поверхневого шару басейну переносять на сито, розмір вічок якого не перевищує довжину ниток спіруліни, наприклад, 35x250 мікрон. Мікроводорості перетворюються у пасту, яку ретельно промивають. Промиту та згущену пасту наносять тонким шаром 1-2 мм на поліетиленову плівку та висушують у сушильній шафі з вентиляційною системою при температурі 45-55°C до ма-

сової долі вологи не більш 10%. Висушені водорості здрібнюють до стану порошку з дрібним помолом.

Отже, запропонований спосіб дозволяє одержати саме лікарську субстанцію мікроводорості *Spirulina platensis*.

---

ДП "Український інститут промислової власності" (Укрпатент)  
Україна, 01133, Київ-133, бульв. Лесі Українки, 26  
(044) 295-81-42, 295-61-97

---

Підписано до друку \_\_\_\_\_ 2001 р. Формат 60х84 1/8.  
Обсяг \_\_\_\_\_ обл.-вид. арк. Тираж 50 прим. Зам. \_\_\_\_\_

---

УкрІНТЕІ, 03680, Київ-39 МСП, вул. Горького, 180.  
(044) 268-25-22

---