



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) UA

(11) 95494

(13) U

(51) МПК

C12N 1/16 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2014 07650**

(22) Дата подання заявки: **07.07.2014**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **25.12.2014**

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **25.12.2014, Бюл.№ 24**

(72) Винахідник(и):

**Стефанишин Ольга Михайлівна (UA),
Гураль Світлана Володимирівна (UA),
Камінська Марта Володимирівна (UA),
Борецька Наталія Іванівна (UA),
Цепко Неоніла Іларіонівна (UA)**

(73) Власник(и):

**ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТВАРИН
НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ АГРАРНИХ
НАУК УКРАЇНИ,
вул. В. Стуса, 38, м. Львів-34, 79034 (UA)**

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ БІОМАСИ КАРОТИНОВІСНИХ КОРМОВИХ ДРІЖДЖІВ

(57) Реферат:

Спосіб одержання біомаси каротиновмісних кормових дріжджів включає культивування дріжджів. Як мікроорганізм-продуцент використовують каротиносинтезувальні дріжджі *Phaffia rhodozyma* штам ІМВ У-5026. Культивування проводять в аеробних умовах за подачі повітря 0,3 л·хв⁻¹·л⁻¹ середовища і температури 20 °С протягом чотирьох діб у поживному середовищі складу (г/л): КН₂РO₄ - 1 г/л; MgSO₄ × 7Н₂O - 0,5 г/л; (NH₄)₂SO₄ - 2 г/л; СаСl₂ × 6Н₂O - 0,1 г/л, дріжджовий екстракт - 2 г/л, сахароза - 20 г/л, ячмінне сусло (2 %), біотин - 2 мкг/л. Отриману біомасу дріжджів центрифугують та сушать за температури 37 °С до 10 % вологості.

UA 95494 U

1. Галузь техніки, до якої належить корисна модель.

Корисна модель належить до сільського господарства, зокрема до галузі кормовиробництва, а саме виробництва кормових добавок. Спосіб може використовуватись на підприємствах різних форм власності, що виробляють корми та кормові добавки для годівлі тварин.

5 2. Рівень техніки

Відомий спосіб одержання біомаси кормових дріжджів на основі дріжджоподібних грибів *Candida utilis* і *Candida tropicalis* (патент України № 36278 від 15.01.2004 Осовик А.М., Янчевський В.К., Сосницький В.В., Воловодівський В.П., Завадовський В.А. «Спосіб одержання біомаси кормових дріжджів»). Недоліком цього способу є використання умовно патогенних

10 грибів, що здатні викликати кандидози при застосуванні у раціонах тварин та птиці, та відсутність у складі біомаси каротиноїдів.

Відомий спосіб отримання біомаси кормових дріжджів *Hansenula species* (патент RU 2127984 від 27.03.99 Захаров В.В., Силенков В.Т., Жирнов В.Н., Баканов В.Н., Шацкова Т.А. «Способ получения белково-витаминного корма и устройство для выращивания кормовых

15 дрожжей») з високим вмістом протеїну, однак цей вид дріжджів не здатний синтезувати каротиноїдні пігменти і, як кормова добавка, не забезпечить потребу у провітаміні А сільськогосподарських тварин.

Найближчим по суті до способу, що заявляється, є спосіб отримання біомаси кормових дріжджів роду *Saccharomyces* (патент RU 2393719 від 20.12.2009 Башашкина Е.В., Панфилов В.И., Шакир И.В., Суясов Н.А., Пашинин А.Е. «Способ получения биомассы кормовых

20 дрожжей»). Особливістю цього способу є використання як продуцента пекарських дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*. Проте, використання цього виду дріжджів не забезпечує наявності у кормовій біомасі каротиноїдів, а також може викликати посилене газоутворення у кишечнику тварин, яким у раціонах застосовують цю добавку.

25 Заявлений нами спосіб усуває недоліки прототипу і забезпечує високий вміст каротиноїдів у біомасі кормових дріжджів.

3. Суть корисної моделі і суттєві ознаки

В основу корисної моделі поставлена задача створити ефективний спосіб отримання біомаси каротиномісних кормових дріжджів, який би був доступним та придатним для

30 застосування на підприємствах з виробництва кормових дріжджів.

Технічний результат вирішується культивуванням каротиносинтезувальних дріжджів *Phaffia rhodozyma* штаму IMB Y-5026 (депонований в колекції Депозитарію Інституту мікробіології і вірусології НАН України), в аеробних умовах за подачі повітря $0,3 \text{ л} \cdot \text{хв}^{-1} \cdot \text{л}^{-1}$ середовища і температури 20°C протягом 4 діб у поживному середовищі складу (г/л): KH_2PO_4 - 1 г/л;

35 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,5 г/л; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ - 2 г/л; $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ - 0,1 г/л, дріжджовий екстракт - 2 г/л, сахароза - 20 г/л, біотин - 2 мкг/л. Для покращення росту дріжджів до середовища додають ячмінне сусло (2 %). Отриману біомасу дріжджів центрифугують та сушать за температури 37°C до 10 % вологості.

Використання каротиносинтезувальних дріжджів *Phaffia rhodozyma* забезпечує вміст у біомасі кормових дріжджів до 1 мг каротиноїдів на грам сухої біомаси. Препарат як джерело каротиноїдів вносять до раціонів птиці у кількості 1-2 % від маси корму.

Відомості, що розкривають суть корисної моделі

При проведенні патентно-інформаційного пошуку виявлене технічне рішення, в якому є ряд суттєвих ознак спільних із заявленим рішенням: для виробництва кормових дріжджів використовують штами дріжджів, біомаса яких застосовується як кормова добавка до раціонів тварин. Однак, наявність зазначених спільних з прототипом ознак недостатня для отримання технічного результату, який забезпечує заявлений спосіб, оскільки у заявленому способі застосовують дріжджі *Phaffia rhodozyma*, біомаса яких є джерелом каротиноїдів. Технічних рішень, які б за сукупністю ознак співпадали із заявленим способом, у патентній і науково-технічній інформації не виявлено. Це дозволяє зробити висновок про відповідність заявленого

50 технічного рішення критерію корисної моделі «новизна».

У джерелах патентної і науково-технічної інформації не знайдено технічних рішень, в яких би були описані відомості про ознаки, що відрізняють заявлений спосіб від прототипу і забезпечують досягнення технічного результату: отримання біомаси каротиномісних кормових дріжджів використовуючи дріжджі *Phaffia rhodozyma* штаму IMB Y-5026. Цей спосіб може бути використаний на підприємствах різної форми власності для виробництва кормових добавок, зокрема кормових дріжджів з вмістом каротиноїдів у біомасі. Спосіб відповідає критерію «промислова придатність».

55

Таким чином, заявлене технічне рішення є новим, промислово придатним, тобто відповідає всім умовам патентоспроможності корисної моделі відповідно до статті 7 розділу II Закону України «Про охорону прав на винаходи і корисні моделі» № 1771-III, 2000 р.

4. Відомості, що підтверджують можливість здійснення корисної моделі

5 4.1 Порядок здійснення способу

Заявлений спосіб здійснюють так: вирощують каротиносинтезувальні дріжджі *Phaffia rhodozyma* штаму IMB Y-5026 в аеробних умовах за подачі повітря $0,3 \text{ л} \cdot \text{хв}^{-1} \cdot \text{л}^{-1}$ середовища і температури 20°C протягом 4 діб у поживному середовищі складу (г/л): KH_2PO_4 - 1 г/л; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,5 г/л; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ - 2 г/л; $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ - 0,1 г/л, дріжджовий екстракт - 2 г/л, сахароза - 20 г/л, біотин - 2 мкг/л. Для покращення росту дріжджів до середовища додають ячмінне сусло (2 %). Отриману біомасу дріжджів центрифугують та сушать за температури 37°C до 10 % вологості.

4.2 Приклад конкретного виконання

Спосіб отримання біомаси кормових каротиновмісних дріжджів та його переваги над прототипом підтверджено науковими дослідженнями, результати яких представлені нижче.

Проведено культивування дріжджів *Phaffia rhodozyma* у лабораторних умовах з отриманням сухих кормових каротиновмісних дріжджів.

Культура: штам дріжджів *Phaffia rhodozyma* IMB Y-5026, здатний синтезувати 1 мг каротиноїдів/г сухої маси. Культуру штаму підтримують на скошеному сусло-агарі і зберігають за температури 4°C .

Поживне середовище: дріжджі вирощують на синтетичному середовищі, яке містить (г/л): KH_2PO_4 - 1 г/л; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,5 г/л; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ - 2 г/л; $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ - 0,1 г/л, дріжджовий екстракт - 2 г/л, сахароза - 20 г/л, біотин - 2 мкг/л, для покращення росту дріжджів до середовища додають ячмінне сусло (2 %).

Культивування дріжджів ведуть за схемою: пробірка > колба > ферментер.

Інокулят: а) клітини дріжджів з одного косяка переносять у стерильні колбочки об'ємом 250 мл, які містять по 50 мл середовища і культивують на качалці (200 об./хв) за температури 20°C протягом 48 год; б) в 0,5-літрові колби з 100 мл середовища переносять стерильно суспензію дріжджів попереднього етапу з таким розрахунком, щоб початкова біомаса становила 250-350 мг сухої біомаси/л. Культивують на качалці за температури 20°C протягом 2-х діб. Біомаса посівної культури становить при цьому 2-3 мг/мл.

Вирощування дріжджів у ферментері: використовують ферментер на 20 л, який попередньо стерилізують 95 % етанолом. Біля полум'я пальника в ферментер вливають 10 л синтетичного середовища з добавкою сусла (2 %), вносять інокулят з розрахунку 250-260 мг сухої біомаси/л середовища. Температурний режим 20°C з подачею повітря $0,3 \text{ л} \cdot \text{хв}^{-1} \cdot \text{л}^{-1}$ середовища. Для піногасіння у ферментер вносять соняшникову олію (0,1 %). рН середовища необхідно підтримувати на рівні 5-6. Культивування дріжджів закінчують через чотири доби, коли їх біомаса становитиме приблизно 3-4 г/л, а вміст каротиноїдів у клітинах - 800-1000 мкг/г сухої біомаси.

Отримання сухих кормових каротиновмісних дріжджів: культуральну рідину з клітинами відстоюють, супернатант зливають і отримують густу суспензію дріжджів (рідкий препарат каротиноїдів). Суспензію центрифугують, препарат висушують за температури 37°C до вологості 10 %. Він містить каротиноїди, які знаходяться всередині клітин, і залишки компонентів живильного середовища.

Вміст каротиноїдів у біомасі кормових каротиновмісних дріжджів - 1 мг/г сухої маси, у біомасі кормових дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* (прототип) каротиноїди відсутні.

Таким чином, аналіз представлених даних вказує, що заявлений спосіб є вигідним та технологічно виправданим.

50 ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб одержання біомаси каротиновмісних кормових дріжджів, який включає культивування дріжджів, який **відрізняється** тим, що як мікроорганізм-продуцент використовують каротиносинтезувальні дріжджі *Phaffia rhodozyma* штам IMB Y-5026, культивування проводять в аеробних умовах за подачі повітря $0,3 \text{ л} \cdot \text{хв}^{-1} \cdot \text{л}^{-1}$ середовища і температури 20°C протягом чотирьох діб у поживному середовищі складу (г/л): KH_2PO_4 - 1 г/л; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,5 г/л; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ - 2 г/л; $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ - 0,1 г/л, дріжджовий екстракт - 2 г/л, сахароза - 20 г/л, ячмінне сусло (2 %), біотин - 2 мкг/л, а отриману біомасу дріжджів центрифугують та сушать за температури 37°C до 10 % вологості.

Комп'ютерна верстка А. Крулевський

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601