



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **90438** (13) **U**
(51) МПК (2014.01)
C11B 1/00
A23D 9/02 (2006.01)
A23K 1/16 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2013 15418	(72) Винахідник(и): Астаф'єв Віктор Всеволодович (UA), Литвиненко Сергій Андрійович (UA), Третьяков Сергій Олександрович (UA)
(22) Дата подання заявки: 30.12.2013	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 26.05.2014	(73) Власник(и): Астаф'єв Віктор Всеволодович, вул. Ентузіастів, 11/1, кв. 158, м. Київ, 02154 (UA), Литвиненко Сергій Андрійович, вул. Райдужна, 31, кв. 15, м. Київ, 02218 (UA), Третьяков Сергій Олександрович, вул. Піонерська, 23, м. Ірпінь, Київська обл., 08205 (UA)
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 26.05.2014, Бюл.№ 10	(74) Представник: Невинний Микола Якович, реєстр. №127

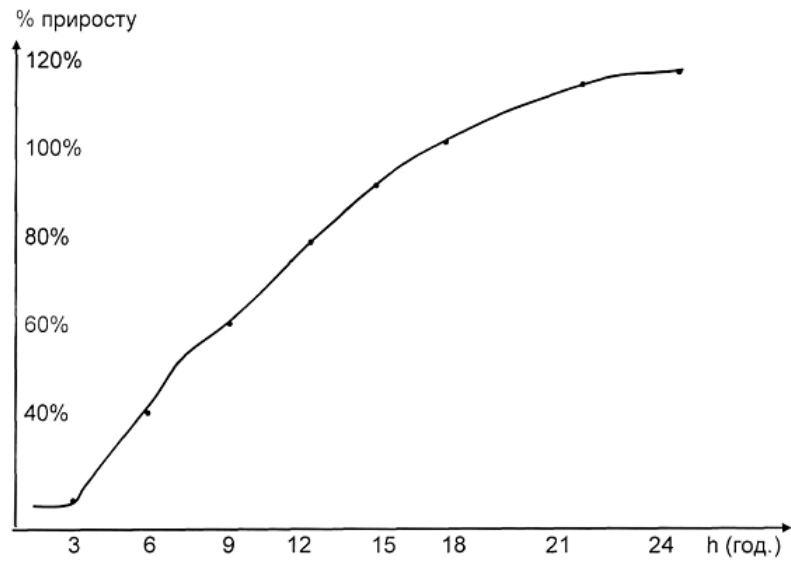
(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ОЛІЇ ІЗ БІОМАСИ

(57) Реферат:

Спосіб одержання олії з біомаси, що містить одну або декілька довголанцюгових поліненасичених жирних кислот, передбачає контакт олії-носія з ліпідною біомасою, яка включає культури мікроорганізмів, біоконверсію і відділення отриманої олії. Як біомасу використовують водну бактерійно-грибну суспензію з добавкою лігноцелюлозної сировини з подальшим її зброджуванням.

UA 90438 U

Динаміка приросту рослинних олій, отриманих способом бактерійно-грибної біоконверсії (в % від вносимої первинної маси екстрагента)



Корисна модель належить до технології одержання з біомаси олії, що містить одну або більше поліненасичених жирних кислот у формі тріацилгліцеринів, яку використовують як інгредієнт в харчовій промисловості, та може бути використана також в косметичній або фармацевтичній галузі, та крім того ферментизованої кормової суміші, отриманої після виділення олії з біомаси.

Відомий спосіб отримання олії, яка містить арахідонову кислоту (АРК) та включає АРК-вмісні тригліцериди і додатково ейкозапентаєнову кислоту шляхом культивування мікробних штамів *Pythium insidiosum* у присутності джерел вуглецю і азоту у ферментері на поживному середовищі до отримання бажаної кількості біомаси, подальшого збору біомаси та вилучення олії з біомаси [1].

Недоліком відомого способу є обмежений круг отримуваних олій і низька продуктивність способу.

Способи отримання мікробних олій розкриваються також в наступних повідомленнях, кожне з яких використовується тут як посилання: Заявка США № 07/496,572 від 21.03.90 р. розкриває одержання окремих клітинних олій, які містять ейкозапентаєнову кислоту (EPASCO). Патентна заявка США № 07/479,135 від 13.02.90 р. розкриває спосіб отримання окремої клітинної олії, яка містить докозагексаєнову кислоту (DHASCO). Патентна заявка США № 07/645,454 відноситься до отримання окремої клітинної олії, яка містить арахідонову кислоту (APACO). У патенті Європи EP № 322227 також розкривається мікробна система, яка продукує олію. Жодне з цих посилань не вказує на використання суміші, що містить немодифіковані мікробні олії, як харчової або кормової добавки.

Найбільш близьким пропонованому способу одержання олії, є спосіб одержання олії, яка містить поліненасичені жирні кислоти, шляхом приведення в контакт олії-носія з біомасою, отриманою з культури мікроорганізму, зокрема, гриба або мікроводорості, що містить кислоти ARA, DHGLA, DHA або EPA [2].

Олію отримують, змішуючи олію-носіє з сухою біомасою і відділяючи олію від твердих компонентів шляхом пресування. Для того, щоб підвищити міру включення ARA, стінки мікроорганізмів руйнують шляхом обробки при високому тиску, ферментативними способами або зменшенням розмірів сухих часток біомаси шляхом їх подрібнення, переважно у присутності олії-носія і в інертній атмосфері, наприклад, в струмі азоту. Далі олію відділяють від біомаси шляхом фільтрування або пресування, переважно, при високому тиску, і потім здійснюють кінцеве фільтрування, з тим, щоб видалити дрібні частки біомаси (див. також аналог - патент Російської Федерації [3]).

Недоліком цього способу, вибраного як прототип до способу, що заявляється, слід віднести низький відсоток вилучення олії з біомаси: для досягнення вмісту поліненасичених жирних кислот, щонайменше, 3,5 % в готовій олії, вибрано співвідношення, при якому на кожні 70 частин олії-носія доводилося 30 частин біомаси. Крім цього, що важливо, недоліком відомого способу є необхідність постійних поставок біомаси для подальшого виробництва олії.

В основу корисної моделі поставлена задача розробки економічного високопродуктивного способу виробництва олії, яка містить поліненасичені жирні кислоти, з відходів сільськогосподарського виробництва та з використанням аеробних штамів-продуцентів на самовідновлюваній основі.

Поставлена задача вирішується тим, що в способі одержання олії, яка містить одну або декілька довголанцюгових поліненасичених жирних кислот, що передбачає контакт олії-носія з ліпідною біомасою, яка включає культури мікроорганізмів, подальшу біоконверсію і відділення отриманої олії, згідно з корисною моделлю, як біомасу використовують водну бактерійно-грибну суспензію з добавкою лігноцелюлозної сировини з подальшим її зброджуванням. Рішення задачі досягається зокрема тим, що як водну бактерійно-грибну суспензію використовують гідрозмивний свинячий гній, або бактерійні штами-продуценти компосту лісової підстилки, а як лігноцелюлозну сировину використовують солом'яну січку та/або солом'яні пелети, та/або деревне борошно, а після відділення олії осад ферментизованої ліпидовмісної клітковини використовують як корм для тварин.

Використання як водної бактерійно-грибної суспензії безпідстилкового свинячого гною та/або перегною лісової підстилки з добавкою лігноцелюлозної сировини і подальше їх зброджування забезпечує безперервний цикл самовідновлення мікроорганізмів в поживному середовищі, що є джерелом їх подальшої біоконверсії в поліненасичені жирні кислоти. Завдяки високому вмісту в гної органічних речовин він є сприятливим середовищем для мікроорганізмів різних функціональних груп. Крім цього відомо, що в гної є азот, фосфор, калій, кальцій, магній. З мікроелементів - марганець, мідь, молібден, бор, кобальт. Цінність гною полягає також у вмісті численної і активної мікрофлори. Перегній лісової підстилки - отримуваний в результаті

розкладання різних органічних речовин під впливом життєдіяльності мікроорганізмів м'який перегній або муль, який складається з буро-сірих, що значною мірою зберегли скелет та подрібнені рослинні залишки - сприятливе середовище для розвитку грибів і бактерій.

Відомо, що у цілого ряду бактерій масляно-кислого бродіння (ґрунтових клостридій та ін.), а також безлічі пліснявих грибів, зміст ліпідів у складі цитоплазми - внутрішньоклітинній рідині доходить до 57-70 %. Даний спосіб використовує розкладання клітковини (лігноцелюлози) в умовах анаеробної ферментації, яке супроводжується виділенням летких сполук жирних кислот, а також водню, вуглекислоти та ін. газів.

Основними первинними жирними кислотами є пропіонат, бутират, ацетат, які легко полімеризуються, утворюючи основу ліпідів у вигляді лінолевої, ліноленової, арахідонової та інших кислот. Синтез олії відбувається у ферментаторі бактерійним способом при одночасній дії на ліпідну біомасу олії-носія, який в даному випадку виступає біоматрицею. З метою прискорення процесів ферментації та збільшення змісту рослинного білку в лігноцелюлозну бактерійно-грибну суспензію можуть вносити дрібноздріблену замісну масу кропи дводомної та/або багату нітросполуками сидератну масу (конюшину, вику, фацелію, люцерну, рапс та ін.). У подальшому внесення кропи або сидератів робиться тільки у разі білкового збіднення збродженої бактерійної насиченої сировини. Враховуючи високу концентрацію бактерійно-грибної суспензії, разом з процесами масляно-кислого бродіння відбувається накопичення протеїнів і відповідних кислот бактерійного походження.

Після попереднього збродження, яке триває 5-7 діб при t° 32-40°, сировина напівфабрикату поміщається в тканинну проникну оболонку і витримується в середовищі раніше отриманої ферментизованої олії, яка використовується як олія-носіє. Через 1-1,5 діб після витримки сировина віджимається на стандартному пресовому устаткуванні. При цьому в рідкій фазі є присутніми ліпіди і водорозчинні жирні кислоти з суспензією. Водонасичена частина віджатої рідини знову повертається у ферментатор для збродження в лігноцелюлозній бактерійно-грибній суспензії, а віджата суміш представляє собою ліпідизований комбікорм. Екстрагування (біоконверсія) отриманої олії роблять, через кожні 1,5 години (з урахуванням швидкості розмноження та лізису бактерійно-грибної суспензії. Екстракт - поліненасичені жирні кислоти (ліпіди зі змістом 96-98 %). Незалежно від маси екстрагента, який спочатку вноситься, подвоєння цієї маси досягається через 15-17 годин, після чого абсолютний приріст на 100 %. (див. діаграму «Динаміка приросту рослинних олій, отриманих способом бактерійно-грибної біоконверсії (в % від вносимої первинної маси екстрагента»)).

Спосіб ілюструється прикладами конкретного виконання.

Приклад № 1.

Для отримання поліненасичених жирних кислот (рослинних олій) використовують 2 ємності. У першу ємність закладають наступні компоненти:

- подрібнену соломку у вигляді січки або у вигляді пелет;
- солом'яну січку/пелети просочують 2-а частинами теплої води (35-40 °C) до розбухання і часткового розкладання соломи;
- через 2-3 години додають 2 частини гідрозмивного свинячого гною, водністю 90-92 %;
- гнойово-солом'яну масу витримують впродовж 40-50 годин при температурі 35-42 °C при закритій кришці ємності.

Після досягнення інтенсивного бродіння (візуально - у вигляді виділення газових бульбашок) в гнойово-солом'яну масу вносять рослинну олію, яка служить екстрагентом по відношенню до напівфабрикату, насиченого ефірами жирних кислот. Маса вносимого екстрагента (олії) складає 3 частини. У другій ємності виробляють жирну водну емульсію - водний ефіронасичений розчин жирних кислот. Для цього робочу суміш для бродіння готують аналогічно суміші в 1-ій ємності. Відмінність полягає в об'ємі вносимої олії. Його кількість - 0,3 частини. Інші 2,7 частини - вода. Сама олія, що вноситься, є нефільтрованою і містить осад - фуз, який характеризується великою бактерійною заселеністю. Процес отримання олії полягає в тому, що періодично з 1-ої ємності (1 раз в 4-8,5 години) вилучають 8-10 об'ємних % від загальної маси внесеної первинної олії. Для балансу рідинного об'єму в ємність № 1 вносять напівфабрикат - водно-жирову емульсію з ємності № 2. Накопичення олії в ємності № 1 визначається бактерійним масляно-кислим бродінням клітковини лігноцелюлози і отриманням при цьому летких ефірів жирних кислот, які сорбуються в масляній товщі, збільшуючи тим самим загальну масу рослинної олії. Як первинну олію було використано соняшникову, кукурудзяну, льняну, гірчичну. В усіх випадках була досягнута надбавка до первинної олії за рахунок бактерійного бродіння. Осадова товща, що знаходиться в ємностях №№ 1, 2 є ферментизована ліпідовмісна клітковина, яка повністю засвоюється як корм для тварин, зокрема, свинями. Про це свідчать проведені кормові експерименти.

Приклад № 2.

З метою прискорення процесів ферментації в солом'яно-гноюву водну суміш вносять на фазі масляно-кислого бродіння кропив'яну зелену масу - 1 об'ємну частину. Відбувається спільне молочно-кисле і масляно-кисле бродіння, яке триває 3-й доби при температурі 25-30 °С.

5 Це дозволяє істотно збільшити вміст протеїну у ферментизованій кормовій суміші, а також амінокислотний склад отриманих білків, зокрема збільшити зміст серотоніну.

Приклад № 3.

З метою підтримки високого рівня протеїнів і інтенсивності процесів бродіння в робочу бродильну суміш вносять природні азотофіксатори - рослини-сидерати: конюшину та/або люпин, та/або вику, та/або фацелію у кількості 0,5 об'ємної одиниці. Ці рослини використовують у вигляді насінного матеріалу, або у фазі цвітіння. Суміш подрібненої соломи і деревного борошна інтенсифікує процес олієтворення з внутрішньоклітинної рідини бактерій і пліснявих грибів, для яких солом'яно-деревна суміш є сприятливим ферментизуючим середовищем. Зміст крохмалю в деревно-борошняній целюлозі визначає біоенергетичну цінність поживного середовища. Бактерійний гідроліз дозволяє при мезофільних температурах отримувати олію бактерійним способом в промислово значимих кількостях, при цьому, окрім олії, одночасно можна отримати повноцінний збалансований комбікорм на беззерновій основі, періодично поповнюючи ємності № 1 і № 2 сумішшю подрібненої соломи та деревного борошна (співвідношення між ними визначається конкретним режимом, в якому робиться комбікорм і

10 рослинні олії). Наведені вище приклади не вичерпують усіх варіантів здійснення способу.

Джерела інформації:

1. Патент Російської Федерації № 2120998, кл. C12P 7/40; публ. 27.10.1998 р.

2. Патент EP 1239022, кл. A23D 9/00; A23D 9/007; A23K 1/00; A23K 1/16; C11B 1/00; публ. 11.09.2002 р.

25 3. Патент Російської Федерації № 2288255, кл. C11B 1/06, A23D 9/00; A23K 1/16; публ. 27.11.2006 р. (прототип).

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

30 1. Спосіб одержання олії з біомаси, що містить одну або декілька довголанцюжгових поліненасичених жирних кислот, передбачає контакт олії-носія з ліпідною біомасою, яка включає культури мікроорганізмів, біоконверсію і відділення отриманої олії, який **відрізняється** тим, що як біомасу використовують водну бактерійно-грибну суспензію з добавкою лігноцелюлозної сировини з подальшим її зброджуванням.

35 2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що перед зброджуванням у біомасу вносять подрібнену кропив'яну зелену масу та/або природні азотофіксатори - рослини-сидерати.

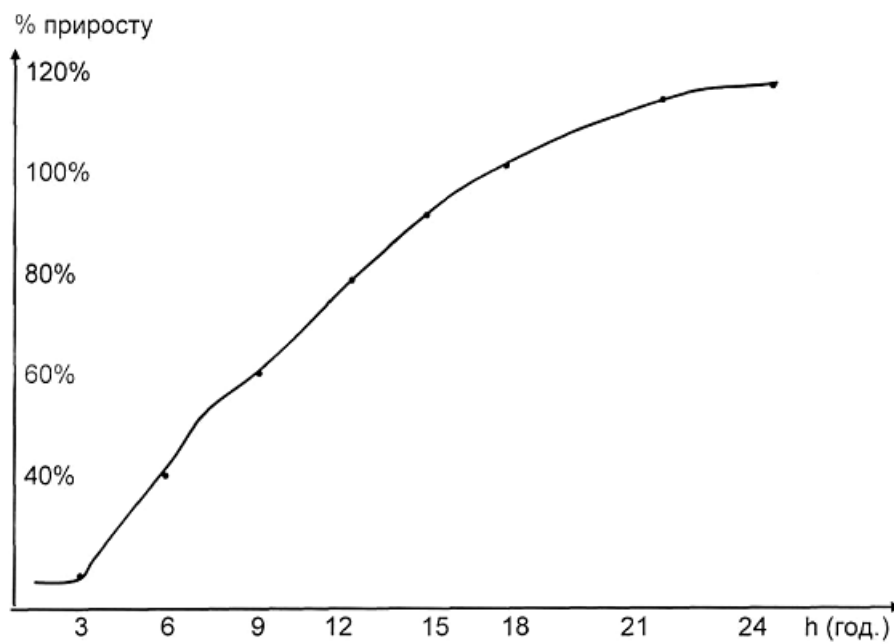
3. Спосіб за пп. 1, 2, який **відрізняється** тим, що як водну бактерійно-грибну суспензію використовують гідрозмивний свинячий гній.

4. Спосіб за пп. 1, 2, який **відрізняється** тим, що як бактерійно-грибну суспензію використовують бактерійні штами-продуценти компосту лісової підстилки.

40 5. Спосіб за будь-яким з пп. 1-3, який **відрізняється** тим, що як лігноцелюлозну сировину використовують солом'яну січку та/або солом'яні пелети, та/або деревне борошно.

6. Спосіб за будь-яким з пп. 1-4, який **відрізняється** тим, що після відділення олії осад ферментизованої ліпидовмісної клітковини використовують як продукт, призначений для корму тварин.

45



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