



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **67931** (13) **U**
(51) МПК (2012.01)
C12P 19/00

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки:	u 2011 09710	(72) Винахідник(и):	Кляйнер Філіп Арнольдович (UA)
(22) Дата подання заявки:	03.08.2011	(73) Власник(и):	Кляйнер Філіп Арнольдович,
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель:	12.03.2012		вул. Нова, 10, кв. 20, м. Одеса, 65013 (UA)
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	12.03.2012, Бюл.№ 5	(74) Представник:	Ващук Ярослав Петрович, реєстр. №45

(54) СПОСІБ ПІДГОТОВКИ ВИРОБНИЧОГО СЕРЕДОВИЩА ДО ФЕРМЕНТАЦІЇ

(57) Реферат:

Спосіб підготовки виробничого середовища до ферментації, що включає підготовку і антисептичну обробку середовища. Як антисептик використовують препарат двоокису хлору, який утворюється в результаті хімічної реакції при змішуванні компонентів у складі середовища.

UA 67931 U

Корисна модель належить до харчової промисловості, а саме до спиртової, цукрової і дріжджової галузей.

Відомий спосіб одержання спирту і хлібопекарських дріжджів шляхом ферментації середовища з вуглеводовмісної сировини до ферментації передбачає розбавлення сировини водою, підкислення, антисептування, збагачення поживними речовинами. За цим способом як антисептик використовують хлорне вапно або сульфонал, або сульфохлорантин (Технологический регламент производства этилового спирта и прессованных хлебопекарных дрожжей из мелассно-спиртовой бражки, Киев, 1990. Инструкция по применению новых антисептических препаратов, Киев, 1990).

При переробці цукрового буряка неминучі втрати сахарози, викликані діяльністю мікроорганізмів, які складають 34-45 % від загальних неврахованих втрат виробництва. Для захисту від мікробіологічних процесів при екстрагуванні сахарози використовують препарати-антисептики.

Відомий спосіб, в якому для пригнічення мікрофлори при проведенні процесу екстрагування сахарози як антисептик використовують формалін (Сапронов А.Р. Технология сахарного производства - 2-е изд.; испр. и доп. - М.: Колос, 1999). Однак він має цілий ряд істотних недоліків: токсичний, екологічно небезпечний, корозійноактивний, негативно впливає на навколишнє середовище і здоров'я людини. Причиною, що перешкоджає подальшому вдосконаленню способу екстрагування сахарози, є те, що формалін має вузький спектр антибактеріальної активності і не всіх шкідників виробництва знищує повністю, зокрема, обмежена дія цього препарату на спорові, нітритоутворюючі бактерії групи кишкової палички (БГКП) та дріжджоподібні гриби роду *Candida*. Розвиток такої інфікуючої мікрофлори може привести до повного припинення процесу екстрагування сахарози.

Найбільш близьким до заявленого технічного рішення є спосіб підготовки виробничого середовища з вуглеводовмісної сировини до ферментації, що передбачає змішування сировини з водою, підкислення, антисептування і збагачення поживними речовинами, в якому як антисептик використовують препарат "Дезактин" (патент UA № 38039A, опубл. 15.05.2001, бюл. № 4).

Дезактин - суміш хлоровмісної сировини з поверхнево-активною та модифікуючими добавками. Препарат вносять в кількості 0,0025 % до об'єму середовища.

Причиною, що перешкоджає подальшому вдосконаленню способу підготовки виробничого середовища до ферментації, є те, що препарат має вузький спектр антибактеріальної активності і не всіх шкідників виробництва знищує повністю, зокрема, обмежена дія цього препарату на спорові, нітритоутворюючі БГКП та дріжджоподібні гриби роду *Candida*. Розвиток такої інфікуючої мікрофлори може привести до повного припинення процесу бродіння.

Одна із головних проблем у процесі ферментації є проблема як зупинити розвиток сторонньої мікрофлори, яка інфікує та використовує поживні речовини що призводить до зменшення виходу цільового продукту (цукор, спирт, дріжджі).

В основу корисної моделі поставлено задачу у відомому процесі підготовки виробничого середовища з вуглеводовмісної сировини до ферментації шляхом використання певної кількості нового антисептика забезпечити технічний результат - більш широкий спектр антимікробної дії і при цьому отримати пов'язану з технічним результатом споживчу властивість технічного рішення - зменшення витрат сировини і допоміжних матеріалів.

Поставлена задача вирішується тим, що в способі підготовки виробничого середовища до ферментації, що включає підготовку і антисептичну обробку середовища, як антисептик використовують препарат двоокису хлору (ClO_2) кількістю 0,00005-0,0002 % до об'єму середовища, який утворюється в результаті хімічної реакції при змішуванні компонентів у складі середовища.

За варіантом виконання корисної моделі підготовку середовища при одержанні спирту і хлібопекарських дріжджів шляхом ферментації проводять змішуванням сировини з водою, підкисленням, внесенням поживних речовин.

За варіантом виконання корисної моделі підготовку середовища при екстрагуванні сахарози проводять створенням бурякової сокоотружкової суміші.

В свою чергу, препарат використовують у вигляді двокомпонентного комплексу "Фермент Плюс", один компонент якого містить одну або декілька органічних або неорганічних кислот, другий - хлорит натрію.

Причому, компоненти препарату використовують у вигляді рідинних розчинів або сухої суміші.

Крім цього, препарат використовують в наступному співвідношенні компонентів, мас. %:

хлорит натрію (NaClO_2)	0,1-30,0
лимонна кислота ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$)	0,1-50,0
молочна кислота ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$)	0,1-15,0
бісульфат натрію (NaHSO_4)	0,1-40,0.

Реалізують спосіб підготовки виробничого середовища до ферментації наступним чином.

В процесі антисептичного обробітку цукрової сировини (бурякова стружка) як антисептик використовують препарат "Фермент Плюс" у кількості 0,00005-0,0002 % двоокису хлору (ClO_2) до об'єму середовища.

5 Запропонований новий препарат "Фермент Плюс" (ТУУ 24.2-31339253.002-2003) являє собою двокомпонентний комплекс у двох пляшках, промаркованих № 1 та № 2, для препарату, який виробляється у вигляді рідини, або у вигляді двох пакетів, промаркованих № 1 та № 2, для препарату, який виробляється у вигляді сухої суміші.

10 Препарат, який виробляється у формі рідини, складається з комплексу препаратів, розташованих у двох різних пляшках, промаркованих за номерами № 1 та № 2. Пляшка № 1 є активатором, який містить одну або декілька органічних або неорганічних кислот. Пляшка № 2 містить у собі рідинний розчин 0,1-30 % хлориту натрію (NaClO_2).

Препарат, який виробляється у формі суміші, складається з комплексу препаратів, розташованих у двох різних пакетах, промаркованих за номерами № 1 та № 2.

15 Пакет № 1 є активатором, який містить одну або суміш декількох органічних або неорганічних кислот. Пакет № 2 містить у собі суміш хлориту натрію (NaClO_2). При поєднанні препаратів № 1 і № 2 розпочинається хімічна реакція, в результаті якої отримують двоокис хлору (ClO_2), який є дуже потужним антисептиком-окислювачем, і, як відомо фахівцям у даній сфері, окислюючі властивості (ClO_2) вдвічі більш потужні, ніж у хлору.

20 Завдяки поєднанню у антисептичному комплексі "Фермент Плюс" цих речовин (не більше ніж 30,0 % хлорит натрію і не більше ніж 50,0 % лимонної кислоти ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$) і/або не більше ніж 15,0 % молочної кислоти ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$; і не більше ніж 40,0 % бісульфату натрію (NaHSO_4)) розпочинається хімічна реакція, в результаті якої отримують двоокис хлору (ClO_2), який є дуже потужним антисептиком, і, як відомо фахівцям у даній сфері, він має більш широкий спектр антимікробної дії відносно контамінуючої мікрофлори, яка викликає негативні процеси у виробництві.

Особливо це стосується нітроутворюючих бактерій, розмноження яких в технологічних середовищах приводить до припинення процесу зброджування, а також дріжджоподібних грибів роду *Candida*, які у виробництві завдають великої шкоди, тому що генеративна активність у них дуже висока у порівнянні з дріжджами-цукроміцетами і у виробничій популяції вони витісняють дріжджі-цукроміцети.

Експериментальним шляхом встановлено антимікробне дозування препарату - 0,00005-0,0002 % двоокису хлору (ClO_2), отриманого при реакції після змішування компонентів № 1 та № 2 до об'єму середовища. Визначене дозування має бактерицидний ефект відносно контамінуючої мікрофлори і не впливає негативно на ріст дріжджів-цукроміцетів.

35 Робочий розчин готують у промаркованій тарі шляхом змішування відповідної кількості препарату з водою. Препарат дозується у кількості 0,00005 %-0,0002 % двоокису хлору (ClO_2) до об'єму середовища в залежності від вимог кожного конкретного виробництва. Потім задають поживні речовини, засівні дріжджі і проводять процес ферментації. По закінченні процесу ферментації в зрілій бражці визначають вміст спирту і накопичення біомаси дріжджів.

Запропонований спосіб підготовки середовища до ферментації ілюструється наступним прикладом.

Для перевірки дії препарату "Фермент Плюс" на інфікуючу мікрофлору у виробництві спирту і хлібопекарських дріжджів з м'яси в останню для одержання максимального рівня мікрофлори вводили комплекс мікроорганізмів $2 \cdot 10^8$ колонії утворюючих одиниць (КУО) в 1 см^3 середовища, куди входили протеолітичні мікроорганізми (представники родів *Bacillus*, *Bacterium*, *Pseudomonas*), кислоутворююча мікрофлора із роду *Lactobacillus* і *Leuconostoc*, нітроутворюючі бактерії, бактерії БГКП і дріжджоподібні гриби роду *Candida*.

50 М'ясу розбавляли водою у співвідношенні 1:3 (в спиртовому виробництві) і 1:17 (у дріжджовому виробництві), збагачували поживними речовинами, доводили рН середовища до рН 4,8-5,0. В середовище задавали препарат "Фермент Плюс" в кількості 0,0001 г/дм³ середовища. Далі засівали відповідними штамами дріжджів: спиртовим У-563 або хлібопекарським У-1009.

Ферментацію проводили при температурі 30 °С.

55 В кінці дріжджовирощувального процесу визначали накопичення біомаси, а також ступінь інфікованості.

Після закінчення процесу бродіння в зрілій бражці визначали вміст спирту і накопичення біомаси.

Технологічні показники процесів представлені в табл. 1.

Таблиця 1

Показники	Виробництво	
	Спиртове	Дріжджове
Біомаса дріжджів, г/дм ³	33,6-33,9	46,1-46,4
Вміст спирту, % об.	8,15-8,25	-
Незброджені вуглеводи, г/100 см ³	0,220-0,225	-
Кількість мікрофлори, КУО/см ³	1·10 ¹	1·10 ¹

5

Дані таблиці свідчать про те, що відхилень в технологічних показниках процесу бродіння немає і інфекції практично не виявлено, а незначна кількість мікрофлори є нормальною і пояснюється тим, що ці технологічні процеси нестерильні.

10 Показники способу підготовки виробничого середовища до ферментації, які підтверджують досягнення технічного результату і переваги перед способом-прототипом, наведені в табл. 2.

Таблиця 2

№ пп	Показники	Спосіб-прототип	Заявлений спосіб
1	Кількість заданого антисептика, г/дм ³	0,0025	0,0001
2	Ступінь інфікованості, КУО/см ³ : загальна кількість спороутворюючі БГКП протеолітичні кислоутворюючі лейконостоки нітроутворюючі бактерії дріжджоподібні гриби роду Candida	1·10 ⁵ 0,5·10 ³ 1·10 ² 1·10 ² 1·10 ¹ 1·10 ² 1·10 ² 1·10 ³	1.101 ріст відсутній ріст відсутній ріст відсутній ріст відсутній ріст відсутній ріст відсутній ріст відсутній
3	Кількість біомаси, г/дм	24,2-24,3	33,6-33,9
4	Вміст етанолу, % об.	7,15-7,20	8,15-8,25
5	Незброджені вуглеводи, г/100 см ³	0,22-0,24	0,20-0,22

15 Дані таблиці свідчать про те, що у заявленому способі підготовки виробничого середовища з вуглеводвмісної сировини до ферментації стороння мікрофлора практично повністю знищується, у тому числі, надзвичайно шкідливі для спиртодріжджового виробництва бактерії кишкової палички, нітритуутворюючі бактерії, а також дріжджоподібні гриби роду Candida, а вихід цільового продукту (спирту) збільшується, про це свідчать дані концентрації етанолу в зрілих бражках.

20 Спосіб екстрагування сахарози проводять в дифузійних апаратах, що використовуються в класичних технологіях виробництва цукру з бурякової сировини.

25 Спочатку проводять приготування робочого розчину антисептичного препарату для захисту від мікробіологічних процесів. Необхідну кількість препарату з розрахунку 0,5-2,0 г двоокису хлору (ClO₂), отриманого при реакції після змішування компонентів № 1 та № 2, на 1 м³ об'єму дифузійного соку вносять у вигляді водного розчину двоокису хлору (ClO₂). Робочий розчин готують у промаркованій тарі шляхом змішування відповідної кількості препарату з водою. Препарат дозується у кількості 0,00005 %-0,0002 % двоокису хлору (ClO₂) до дифузійного соку. Температурні умови повинні бути в межах +10...+80 °С.

30 Робочий розчин препарату через дозатор вводять безпосередньо в дифузійний апарат, де він перемішується з буряковою сокоотружковою сумішшю.

Можливість промислового використання препарату та ефективність запропонованого способу установлена в результаті наступних досліджень.

Експериментальним шляхом встановили антимікробне дозування препарату 0,00005-0,0002 % двоокису хлору (ClO_2) по відношенню до маси цукрової сировини. Визначене дозування має бактерицидний ефект відносно контамінуючої мікрофлори і не впливає негативно на кінцевий продукт переробки - цукор.

Визначення ефективності дії препарату проводили класичним методом посіву досліджуваних об'єктів на відповідні живильні у середовища чашки Петрі. Як контроль використовували формалін.

При проведенні мікробіологічних досліджень визначали вміст термофілів, мезофілів, слизоутворюючих мезофілів і цвілевих грибів. Для визначення мезофільних і термофільних мікроорганізмів проводили висів розведень $1:10^2$, $1:10^3$ і $1:10^4$ у чашки Петрі на м'ясопептонний агар, слизоутворюючих мікроорганізмів - на м'ясопептонний агар з 10 % сахарози, цвілевих грибів - на середовище Чапека. Мезофільна, термофільна і слизоутворююча групи мікроорганізмів визначалися після 48 годин, після їх вирощування в термостаті при відповідних температурах. Облік цвілевих груп мікроорганізмів проводили після 7-ї доби. Число мікроорганізмів визначали по кількості колонієутворюючих одиниць (КУО) у 1 мл дифузійного соку. Виходячи з кількості вирослих колоній досліджуваних груп мікроорганізмів, визначали ефект знезаражування дифузійного соку антисептиками.

Оптимальну витрату препарату визначали методом спонтанного шумування. Для цього отриманий дифузійний сік у кількості 200 мл поміщався в стерильні колби, у які відповідно до варіантів дослідів вводили формалін чи препарат по корисній моделі. Колби з вмістом витримували протягом 24 годин у термостаті при температурі 55 °С. У пробах на початку проведення дослідів і через кожні 12 годин визначали значення рН соку (табл. 3). За даними показникам вівся контроль мікробіологічного інфікування дифузійного соку і робився висновок про активність розвитку в ньому мікроорганізмів.

Показники способу екстрагування сахарози, які підтверджують досягнення технічного результату і переваги перед способом-прототипом, наведені в табл. 3 і табл. 4.

Бактерицидні властивості препарату визначалися шляхом посіву досліджуваних об'єктів на відповідні середовища з наступним обліком кількості вирослих мікроорганізмів.

Як досліджуваний об'єкт використовували дифузійний сік, отриманий у лабораторних умовах.

Досліди проводили по трьох варіантах: 1 - контроль; 2 - обробка формаліном; 3 - обробка препаратом по корисній моделі I, II, III з різною витратою. Витрату формаліну приймали 0,02 % до маси буряка. Витрата препарату - 0,00005 % до маси буряка і 0,0002 % до маси буряка.

Таблиця 3

Динаміка рН дифузійного соку, обробленого антисептиками при температурі 55 °С

Варіанти дослідів	Витримка в термостаті, годин				
	0	12	24	36	48
Контроль	6,47	4,9	4,88	4,81	4,72
Формалін	6,42	6,41	6,41	6,40	6,40
Препарат - I	6,47	6,48	6,48	6,43	6,40
Препарат - II	6,47	6,48	6,47	6,47	6,45
Препарат - III	6,47	6,48	6,47	6,47	6,45

З даних табл. 3 видно, що при витримці дифузійного соку, обробленого формаліном (у дозуванні 0,02 %) і препаратом (у дозуваннях 0,00005 %; 0,0001 % і 0,0002 %) у термостаті при температурі 55 °С, рН, середовище не змінюється, що свідчить про пригнічення росту мікрофлори.

Таблиця 4

Мікробіальна зараженість дифузійного соку при різних видах дезінфекції

Варіант досліджу	Кількість мікроорганізмів у дифузійному соку, КУО */см ³		
	мезофіли	термофіли	слизоутворюючі мезофіли
1 - контроль ** (без обробки препаратами)	2×10^6	$2,5 \times 10^5$	1×10^6
2 - обробка формаліном	$3,5 \times 10^5$	$2,5 \times 10^3$	5×10^4
3 - обробка препаратом I (витрата 0,00005 %)	$2,5 \times 10^5$	2×10^5	1×10^5
4 - обробка препаратом II (витрата 0,0001 %)	5×10^2	4×10^2	$2,2 \times 10^2$
5 - обробка препаратом III (витрата 0,0002 %)	$6,5 \times 10^2$	3×10^2	$2,5 \times 10^2$

Результати мікробіологічного аналізу, представлені в табл. 4, показали, що дифузійний сік контрольного варіанта мав найвищий рівень мікробіального зараження по всіх групах мікроорганізмів, однак цвілевих грибів у ньому не виявлено.

З даних табл. 4 можна зробити висновок, що для антисептування дифузійного соку можливе використання як антисептика препарату у дозуваннях 0,5-2 г/м³ (0,00005-0,0002 мас. %) двоокису хлору (ClO₂).

Обробка дифузійного соку 40 %-ним розчином формаліну приводила до зниження вмісту в ньому мезофілів до $3,5 \times 10^3$ КУО/см, слизоутворюючих мікроорганізмів - до $7,5 \times 10^3$ КУО/мл, термофілів - до $2,5 \times 10^3$ КУО/см³. Середній ефект знезараження по всіх групах мікроорганізмів вище ніж у формаліну.

Отримані результати дозволили зробити висновок про властиві заявленому препарату антисептичні властивості стосовно основних груп мікроорганізмів, що інфікують дифузійний сік (мезофілам, слизоутворюючих мезофілам, термофілам), причому рівень антисептичних властивостей цього препарату вище формаліну.

Примітка:

* КУО - колонієутворюючі одиниці;

** контроль - дифузійний сік, не оброблений антисептиком;

формалін - 0,02 % до маси буряка;

препарат I - 0,00005 % до маси буряка;

препарат II - 0,0001 % до маси буряка;

препарат III - 0,0002 % до маси буряка.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

1. Спосіб підготовки виробничого середовища до ферментації, що включає підготовку і антисептичну обробку середовища, який **відрізняється** тим, що як антисептик використовують препарат двоокису хлору (ClO₂) кількістю 0,00005-0,0002 % до об'єму середовища, який утворюється в результаті хімічної реакції при змішуванні компонентів у складі середовища.

2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що підготовку середовища при одержанні спирту і хлібопекарських дріжджів шляхом ферментації проводять змішуванням сировини з водою, підкисленням, внесенням поживних речовин.

3. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що підготовку середовища при екстрагуванні сахарози проводять створенням бурякової сокостружкової суміші.

4. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що препарат використовують у вигляді двокомпонентного комплексу "Фермент Плюс", один компонент якого містить одну або декілька органічних або неорганічних кислот, другий - хлорит натрію.

5. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що компоненти препарату використовують у вигляді рідинних розчинів або сухої суміші.

6. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що препарат використовують в наступному співвідношенні компонентів, мас. %:

хлорит натрію (NaClO_2)	0,1-30,0
лимонна кислота ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$)	0,1-50,0
молочна кислота ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$)	0,1-15,0
бісульфат натрію (NaHSO_4)	0,1-40,0.

Комп'ютерна верстка В. Мацело

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