



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
A01G 33/00 (2023.02); *C12N 1/12* (2023.02); *C12M 1/33* (2023.02)

(21)(22) Заявка: 2022134122, 23.12.2022

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
 23.12.2022

Дата регистрации:
 30.05.2023

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 23.12.2022

(45) Опубликовано: 30.05.2023 Бюл. № 16

Адрес для переписки:
 355017, г. Ставрополь, ул. Пушкина, 1, ФГАОУ
 ВО "Северо-Кавказский федеральный
 университет", Алиханов Анатолий Алиевич

(72) Автор(ы):

Нагдалян Андрей Ашотович (RU),
 Блинов Андрей Владимирович (RU),
 Оботурова Наталья Павловна (RU),
 Голик Алексей Борисович (RU),
 Маглакелидзе Давид Гурамиевич (RU),
 Яковенко Андрей Антонович (RU),
 Колодкин Максим Андреевич (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное автономное
 образовательное учреждение высшего
 образования "Северо-Кавказский
 федеральный университет" (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
 о поиске: УСТИНСКАЯ Я.В. и др.

"Исследование влияния режимов
 дезинтеграции клеток ультразвуком на
 процесс экстракции внутриклеточного белка
 микроводорослей". Проблемы техногенной
 безопасности и устойчивого развития. Выпуск
 XIII. Тамбов, ФГБОУ ВО "ТГГУ", 2021. US
 2018/0223247 A1, 09.08.2018. RU 2668162 C1,
 26.09.2018. RU 2144078 C1, 10.01.2000. US (см.
 прод.)

(54) Способ получения биомассы микроводорослей *Chlorella vulgaris*

(57) Реферат:

Изобретение относится к биотехнологии, к способам получения биомассы микроводорослей *Chlorella vulgaris*. Способ заключается в том, что микроводоросли *Chlorella vulgaris* помещают в питательную среду, содержащую набор макро- и микроэлементов, при температуре 35–37 °C и pH=5,5–6,5. Через 72 часа экспозиции дисперсию микроводорослей отделяют и измельчают с помощью дезинтеграции клеток микроводорослей путем воздействия ультразвукового излучения со следующими значениями параметров: частота озвучивания рабочего раствора 40–60 кГц, частота модуляции УЗ-излучения 70–100 Гц, время

озвучивания рабочего раствора 23–60 минут, относительная мощность УЗ-излучения 151–300 Вт/л. Затем биомассу микроводорослей высушивают при температуре 40 °C в течение 12 часов. Техническим результатом является получение биомассы микроводорослей *Chlorella vulgaris* с размером отдельных клеток образца порядка 0,6–1,2 мкм и антиоксидантной активностью образца биомассы 87 мг/л в пересчете на галловую кислоту, которая найдет свое применение в производстве кормовых добавок, витаминно-минеральных премиксов для животноводства, а также в пищевой

R U 2 7 9 7 0 1 2 C 1

промышленности для получения функциональных
добавок для обогащения продуктов питания. 4

ил.

(56) (продолжение):
2014/0242641 A1, 28.08.2014. EA 27917 B1, 29.09.2017.

R U 2 7 9 7 0 1 2 C 1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC
A01G 33/00 (2023.02); *C12N 1/12* (2023.02); *C12M 1/33* (2023.02)

(21)(22) Application: 2022134122, 23.12.2022

(24) Effective date for property rights:
23.12.2022

Registration date:
30.05.2023

Priority:

(22) Date of filing: 23.12.2022

(45) Date of publication: 30.05.2023 Bull. № 16

Mail address:
355017, g. Stavropol, ul. Pushkina, 1, FGAOU VO
"Severo-Kavkazskij federalnyj universitet",
Alikhanov Anatolij Alievich

(72) Inventor(s):

Nagdalian Andrei Ashotovich (RU),
Blinov Andrei Vladimirovich (RU),
Oboturova Natalia Pavlovna (RU),
Golik Aleksei Borisovich (RU),
Maglakelidze David Guramievich (RU),
Iakovenko Andrei Antonovich (RU),
Kolodkin Maksim Andreevich (RU)

(73) Proprietor(s):

Federalnoe gosudarstvennoe avtonomnoe
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego
obrazovaniia "Severo-Kavkazskii federalnyi
universitet" (RU)

(54) METHOD FOR OBTAINING BIOMASS OF MICROALGAE CHLORELLA VULGARIS

(57) Abstract:

FIELD: biotechnology.

SUBSTANCE: invention relates to methods for obtaining biomass of *Chlorella vulgaris* microalgae. According to the method *Chlorella vulgaris* microalgae is placed in a nutrient medium containing a set of macro- and microelements at a temperature of 35–37°C and pH=5.5–6.5. After 72 hours of exposure, the microalgae dispersion is separated and crushed by disintegrating microalgae cells by exposure to ultrasonic radiation with the following parameter values: working solution sonication frequency is 40–60 kHz, ultrasonic radiation modulation frequency is 70–100 Hz, working solution sonication time is 23–60 minutes, relative

power of ultrasonic radiation is 151–300 W/l. Then the biomass of microalgae is dried at a temperature of 40°C within 12 hours.

EFFECT: obtaining a biomass of microalgae *Chlorella vulgaris* with a size of individual sample cells of the order of 0.6–1.2 microns and an antioxidant activity of a biomass sample of 87 mg/l in terms of gallic acid, which will find its application in the production of feed additives, vitamin and mineral premixes for animal husbandry, as well as in the food industry for the production of functional additives for food enrichment.

1 cl, 4 dwg

RU 2797012 C1

RU 2797012

C1

Область техники, к которой относится изобретение

Изобретение относится к биотехнологии и способам получения биомассы микроводорослей *Chlorella vulgaris*.

Особенностью изобретения является тот факт, что измельчение клеток

5 микроводорослей *Chlorella vulgaris* проводят с помощью дезинтеграции путем воздействия ультразвукового излучения.

Изобретение найдет своё применение в производстве кормовых добавок, витаминно-минеральных премиксов для животноводства, а также в пищевой промышленности для получения функциональных добавок для обогащения продуктов питания.

10 **Уровень техники**

Хлорелла - род одноклеточных зелёных водорослей, относимый к отделу *Chlorophyta*, имеет сферическую форму, порядка 2 - 10 мкм в диаметре. Калорийность микроводорослей *Chlorella vulgaris* составляет 250 - 400 ккал на 100 г в зависимости от среды обитания в случае с природным происхождением или питательной среды, в случае 15 культивирования. Хлорелла содержит в себе порядка 70 % белка в пересчёте на сухую массу, в состав которого входят девять незаменимых аминокислот. Микроводоросль *Chlorella vulgaris* является источником витамина С, В₁₂ и железа, причём способна покрывать до 65 % суточной потребности микроэлемента в организме человека. Также хлорелла является природным источником омега-3, обладает антиоксидантными 20 свойствами. Таким образом, микроводоросль *Chlorella vulgaris* демонстрирует себя как эффективная пищевая добавка, однако, для повышения усвоемости организмом человека необходимо разрушать клеточную оболочку микроводорослей *Chlorella vulgaris* для образования гомогенной массы.

25 В патенте (№ RU 2558300 C2, опубл. 27.07.2015, Бюл. № 21) раскрывается способ выращивания хлореллы, включающий помещение суспензии хлореллы в две стеклянные емкости, в которых находятся нагреватели с терморегуляторами для поддержания оптимальной температуры 28 ± 2 °C, между емкостями расположен источник 30 искусственного света, отличающийся тем, что в качестве источника искусственного освещения используют фитолюминесцентную лампу, в емкость помещают систему из двух медных параллельно расположенных покрытых изоляционным материалом электродов, на которые подают постоянный ток высокого напряжения 10 - 60 кВ, для создания электростатического поля.

Недостатком данного изобретения является отсутствие информации о составе питательной среды.

35 В патенте (№ WO 2021076021 A2, опубл. 22.04.2021) продемонстрирован способ выращивания биомассы микроводорослей, включающий подготовку минеральной питательной среды, добавление исходной культуры штамма микроводорослей, розлив полученной культуральной смеси в систему последовательно расположенных биореакторов, выполненных в виде горизонтально ориентированных камер из 40 светопропускающего материала, освещение культуральной смеси при помощи вертикально установленных источников искусственного света, отвод полученной суспензии в емкость для естественного осаждения и последующий отвод полученной осажденной биомассы в качестве целевого продукта, отличающийся тем, что

• подготовленная минеральная питательная среда имеет следующий состав:

45 аммиачная селитра (34% раствор) 0,14 мл аммофос (15% раствор) 0,10 мл хлорид железа (1 % раствор) 0,15 мл кобальт азотнокислый (0,1% раствор) 0,10 мл медь сернокислая (0,1 % раствор) 0,10 мл вода питьевая 1000 мл,

• выращивание биомассы осуществляют в одиночной камере биореактора,

выполненной в виде вертикально ориентированного параллелепипеда,

• освещение культуральной смеси осуществляют источниками искусственного света, установленными на внутренней стороне одной из широких стенок камеры биореактора горизонтально ориентированными рядами по высоте камеры биореактора,

5 • освещение культуральной смеси осуществляют циклически,

• на протяжении всех циклов выращивания микроводорослей значение pH

культуральной смеси поддерживают в диапазоне 8,5 - 9,5 посредством добавления в культуральную смесь в начале каждого светового цикла раствора с молочно-кислыми бактериями, значение pH которого выбирают в диапазоне 4,0 - 5,0, в количестве 1 - 3

10 мл на 1 л культуральной смеси.

2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что освещение культуральной смеси

осуществляют в течение 4-х световых циклов, каждый из которых включает 10 часов освещения и последующие 2 часа отсутствия освещения, в период освещения температуру культуральной смеси поддерживают в диапазоне 26 - 30°C, а в период отсутствия

15 освещения - в диапазоне 24 - 26°C.

Недостатком данного изобретения является отсутствие в составе питательной среды ряда необходимых для роста микроводорослей микроэлементов, в частности *Mn* и *Mo*.

Известен патент (№ RU 2662974 C2, опубл. 31.07.2018 Бюл. № 22) «Способ получения

20 супензии пищевой хлореллы и емкость для осаждения хлореллы при получении

штаммов хлореллы в биореактор в виде емкости из прозрачного материала, освещение при помощи источника искусственного света культуральной жидкости в процессе выращивания хлореллы при поддержании необходимой температуры жидкости в

25 биореакторе и использовании в качестве углеродного питания углекислого газа, отвод биомассы хлореллы в качестве целевого продукта, при этом освещение культуральной жидкости осуществляют в автоматическом биореакторе в течение четырех последовательных циклов, каждый из которых включает в себя 10 ч освещения, затем

30 2 ч перерыва в освещении при выключенных источниках искусственного света, при этом в период освещения в биореакторе поддерживается температура 26 - 30 °C, а в период отсутствия освещения - 24 - 26 °C, переливают полученную супензию из биореактора в емкость для естественного осаждения пищевой хлореллы, осуществляют естественное осаждение хлореллы в течение 30 суток с использованием естественного рассеянного света, удаляют надосадочную жидкость из емкости для естественного

35 осаждения хлореллы, отводят загущенную биомассу пищевой хлореллы в качестве целевого продукта.

Недостатком данного изобретения является отсутствие в составе питательной среды ряда необходимых для роста микроводорослей микроэлементов, в частности, *Mn* и *Mo*; отсутствует полное описание технологического процесса, в частности, отсутствует

40 значение важного технологического параметра - pH.

Известно изобретение (№ RU 2562867 C2, опубл. 10.09.2015, Бюл. № 25), в котором предложена установка для выращивания хлореллы, включающая по меньшей мере две стеклянные емкости, установленные на металлическом каркасе и расположенные одна над другой, снабженные нагревателем с терморегулятором и источником освещения,

45 отличающаяся тем, что в качестве источника освещения используются по меньшей мере две фитолюминесцентные лампы со спектром излучения в диапазоне длин волн 400 - 500 нм и 600 - 700 нм, расположенных между парой емкостей, в каждой из которых находится устройство для создания электростатического поля, состоящее из системы

5 медных электродов на параллельных стенках емкостей, выполненных с возможностью регулирования их расположения и расстояния между ними, покрытых изоляционным материалом и подключенных к высоковольтному источнику постоянного электрического тока, выполненного с возможностью регулирования подаваемого напряжения.

10 Недостатком данного изобретения является использование медных электродов, которые необходимы для создания электростатического поля, т.к. при использовании богатых солями металлов питательных сред возможно разрушение изоляционной оболочки под действием электрического тока и загрязнение среды материалами электродов.

15 Известно изобретение (№ RU 2644261 C2, опубл. 08.02.2018, Бюл. № 4) «Способ культивирования микроводоросли Chlorella», которое заключается в перемешивании и аэрации культуральной жидкости, поддержании заданных значений температуры и pH, освещении импульсным источником света с длительностью импульса 0,00001 - 0,001 с и длительностью интервала между импульсами 0,01 - 0,1 с, отличающейся тем, что температурные границы, при которых происходит развитие микроводоросли Chlorella, 27 – 29 °C, освещение периодическое 3 ч утром и 4 ч вечером с добавлением минеральной воды со скважины бисжелезноводского месторождения с содержанием солей 2,5 г/л в среду Тамия при соотношении 1:1, перемешивание осуществляют круговыми движениями.

20 Недостатком данного изобретения является отсутствие информации о составе питательной среды.

25 Известно изобретение (№ CN 110894467 A, опубл. 20.03.2020) «Способ культивирования хлореллы с использованием жидкости для анаэробной ферментации сточных вод при обработке крахмала». Способ культивирования хлореллы включает следующие этапы:

30 (1) - приготовление культурального раствора: проведение анаэробной ферментации в сточных водах, перерабатывающих крахмал, с последующей предварительной обработкой для обеспечения того, чтобы концентрация взвешенных веществ в сточных водах была ниже 70 мг / л, для получения сточных вод анаэробной ферментации крахмала;

35 - предварительная обработка подкисленных органических сточных вод для снижения концентрации взвешенных веществ в сточных водах ниже 70 мг / л для получения подкисленной жидкости;

- приготовление культурального раствора:

- добавление предварительно очищенной жидкости для подкисления сточных вод в сточные воды анаэробного брожения крахмала и перемешивание для получения культурального раствора; при этом добавляемая доля сточных вод брожения составляет не более 10 процентов от сточных вод анаэробного брожения крахмала;

40 (2) культура «одомашнивания» водорослей

Выращивание и культивирование водорослей, выращиваемых в искусственной питательной среде в культуральном растворе, полученном на этапе (1), и непрерывное культивирование и культивирование в течение 13 - 17 дней в условиях интенсивности света 10000 - 14000 люкс и надлежащей температуры 27 - 30 °C для получения одомашненных семян водорослей;

45 (3) культуральный раствор и «одомашненные» водоросли поступают в фотобиореактор для культивирования при следующих параметрах:

1 контролируя температуру на уровне 7 - 39 °C;

2 регулирование значения рН до 5,8 - 7,8;

Управление аэрацией СО₂: аэрация до СО₂, смешанный газ с воздухом, СО₂ Объемное соотношение составляет 5 - 10 %, а количество аэрации в час составляет 0,95 - 2 раза от объема фотопрессора.

5 Недостатком данного изобретения является отсутствие информации об очистке, измельчении биомассы микроводорослей.

Известен патент (№ CN 101481656 A, опубл. 15.07.2009) «Разновидность способа культивирования хлореллы», в котором путем ферментации гетеротрофным питанием получают штамм хлореллы USTB-01, который:

10 1. Обладает способностью к гетеротрофному росту путем скрининга, и номер сохранения - CGMCC №1448, а дата сохранения - 25 августа 2005 года.

2. Способ культивирования хлореллы путем ферментации гетеротрофным питанием по п.1, характеризуется тем, что приготовленный субстрат хлореллы включает основную среду и поток жидкости, подаваемый двумя порциями, а основная среда состоит из 1 15 л деионизированной воды и содержит КН₂РО₄ 1,0 - 5,0 г, MgSO₄*7H₂O 1,0 - 4,0 г, NaCl 0,5 - 2,0 г, NaCO₃ 0,1 - 2,0 г, CaCl₂ 1,0 - 50,0 мг, FeSO₄ 1,0 - 10,0 мг, ZnCl₂ 1,0 - 10,0 мг, MnCl₂*4H₂O 1,0 - 10,0 мг, CuCl₂ 0,1 - 1,0 мг. Состоит из потока, который содержит 600 - 800 г глюкозы в 1 л деионизированной воды, KNO₃ 50 -

20 155 г, соотношение углерода и азота составляет 10:30, различные стадии выращивания в зависимости от хлореллы, добавляют контрольный поток глюкозы и селитры, подготовленную культуральную среду стерилизуют 10 - 30 минут при 120 - 130 °C, при высоком давление 0,10 - 0,18 МПа, Обрабатывается для инокуляции после снижения температуры до 20 - 35 °C проводят культивирование гетеротрофной 25 ферментации.

3. Способ культивирования хлореллы путем ферментации с гетеротрофным питанием по п.2 отличается тем, что для культивирования культуры ферментации с гетеротрофным питанием используется 10 - 5000 литров резервуаров для ферментации, объем культуры составляет 5 - 3000 литров, температура культивирования составляет 20 - 35 °C, рН 6,0 - 8,5, скорость аэрации 0,5 - 2,0 м³/ч, скорость перемешивания 200 - 500 об/мин.

Недостатком данного изобретения является отсутствие информации об очистке, измельчении биомассы микроводорослей.

Известно изобретение (№ CN 100410362 C, опубл. 13.08.2008) «Способ культивирования хлореллы». Данное изобретение отличается тем, что этот способ культивирования может включать дополнительные этапы:

35 А) проведение гетеротрофизма в биореакторных культурах: добавление субстрата рН 6,0 - 7,0 в биореактор, добавление вида водорослей хлореллы на 5 - 10 % от рабочего объема и периодическое культивирование, температура культивирования 28 - 32 °C, рН менее 8,5 при контроле,

40 Б) разбавление жидкости для водорослей: это 5 - 25 граммов на литр жидкости для водорослей, которую на этапе а) получают с субстратом, разбавляют до плотности клеток, и описанный субстрат не содержит органического источника углерода, а его рН составляет 6,0 - 7,0;

45 С) культивируется световая автотрофия: разбавитель, полученный на этапе б), изменяет культивирование световой автотрофии, и температура культивирования составляет 17 - 42 °C, а интенсивность освещения составляет 5 - 60 кГц, а цикл культивирования световой автотрофии составляет 30 - 40 часов.

Недостатком данного изобретения является отсутствие информации о составе

питательной среды.

В патенте (№ RU 91338 U1, опубл. 10.02.2010) описана установка для выращивания микроводорослей, преимущественно хлореллы, включающая каркас, установленную в нем емкость для суспензии микроводорослей, в которой вертикально расположена, по меньшей мере, одна стеклянная обечайка с размещенными в ней лампами и установленным под ней вентилятором, отличающаяся тем, что емкость для суспензии микроводорослей выполнена из светопроницаемого материала и по всей площади боковых стенок емкости расположены люминесцентные лампы, установка дополнительно снабжена аквариумной помпой, обеспечивающей перемешивание суспензии, воздушным компрессором, служащим для подачи углекислого газа через распылители, закрепленные на дне емкости вокруг обечайки, и охлаждающим устройством для автоматического регулирования температуры.

Недостатком данного изобретения является отсутствие информации о составе питательной среды, отсутствует полное описание технологического процесса, в частности, отсутствуют значения важных технологических параметров - pH, температура синтеза и время экспозиции.

Известен «Способ кондиционирования и концентрирования микроводорослей» (№ US 9358553 B2, опубл. 07.06.2016). Способ основан на беспрерывном процессе обработки водорослей, включающий в себя следующие этапы:

- 20 а. получение дисперсии, содержащей несущую жидкость и клетки микроводорослей Dunaliella;
- б. пропускание дисперсии через мельницу, в которой клетки микроводорослей Dunaliella контактируют с движущейся мелющщей средой для разрушения клеточной мембранны клеток микроводорослей Dunaliella и образования кондиционированной суспензии, содержащей гидрофобные тела микроводорослей Dunaliella.;
- 25 в. обработка кондиционированной суспензии с помощью процесса адсорбционного разделения пузырьками с образованием потока, богатого телами микроводорослей Dunaliella, и потока, обедненного телами микроводорослей Dunaliella.

Недостатком данного изобретения является использование вибрационной мельницы для измельчения микроводорослей. Вибрационная мельница содержит камеру, заполненную твердой мелющщей средой, которая подвергается вибрации, что влечёт за собой загрязнение конечного продукта материалами твёрдой мелющщей среды.

Известен «Способ получения каротиноидов из биомассы микроводорослей Chlorella vulgaris» (№ RU 2779642 C1, опубл 12.09.2022 Бюл. № 26), который заключается в следующем: биомассу, предварительно смешанную с жидкой фазой в соотношении 1:5 - 1:7, представляющую собой смесь гексана и этилового спирта в соотношении 2:1, подвергают механической активации путем высокоскоростной гомогенизации при скорости вращения ротора 5000 - 12000 об/мин в течение 5 мин на ледяной бане, после чего осуществляют экстракцию каротиноидов при использовании ультразвука при частоте 25 кГц в течение 5 - 25 мин при температуре $23 \pm 2^\circ\text{C}$, затем экстракт каротиноидов сепарируют и отделяют от хлорофилловых кислот омылением щелочью калия с последующим разделением фракций, полученный экстракт каротиноидов промывают холодной дистиллированной водой, после чего подвергают сгущению под вакуумом при температуре 45°C .

Недостатком изобретения является использование смеси гексана и этилового спирта, которые требуют дальнейшего удаления из продукта, а также процесс гомогенизации, который усложняет весь процесс получения конечного продукта и удорожает производство.

Краткое описание чертежей и иных материалов

На фиг. 1 представлена АСМ-микрофотография образца биомассы микроводорослей *Chlorella vulgaris*, выполненного по Примеру 1.

На фиг. 2 представлена АСМ-микрофотография образца биомассы микроводорослей

5 *Chlorella vulgaris*, выполненного по Примеру 2.

На фиг. 3 представлена АСМ-микрофотография образца биомассы микроводорослей *Chlorella vulgaris*, выполненного по Примеру 3.

На фиг. 4 представлены результаты исследования антиоксидантной активности образцов биомассы микроводорослей *Chlorella vulgaris*, выполненных по Примерам 1 10 - 3.

Раскрытие изобретения

Задача, на решение которой направлено изобретение, заключается в получении биомассы микроводорослей *Chlorella vulgaris*.

Технический результат, который может быть достигнут с помощью предлагаемого 15 изобретения, сводится к получению биомассы микроводорослей *Chlorella vulgaris*, которая найдёт своё применение в производстве кормовых добавок, витаминно-минеральных премиксов для животноводства, а также в пищевой промышленности для получения функциональных добавок для обогащения продуктов питания.

Технический результат достигается с помощью дезинтеграции клеток 20 микроводорослей *Chlorella vulgaris* путем воздействия ультразвукового излучения со следующими значениями параметров:

частота озвучивания рабочего раствора	40 - 60 кГц
частота модуляции УЗ-излучения	70 - 100 Гц
время озвучивания рабочего раствора	23 - 60 минут
25 относительная мощность УЗ-излучения	151 - 300 Вт/л

Осуществление изобретения

Пример 1.

Способ получения биомассы микроводорослей *Chlorella vulgaris*, заключающийся в 30 следующем: микроводоросли *Chlorella vulgaris* помещают в питательную среду, содержащую следующий набор макро- и микроэлементов: *N, P, Mg, K, S, Fe, Cu, Ca, Mn* и *Mo*, при температуре 35 - 37 °C и pH = 5,5 - 6,5, через 72 часа экспозиции дисперсию микроводорослей *Chlorella vulgaris* отделяют и измельчают. Способ получения отличается тем, что измельчение проводят с помощью дезинтеграции клеток микроводорослей 35 *Chlorella vulgaris* путем воздействия ультразвукового излучения со следующими значениями параметров:

частота озвучивания рабочего раствора	40 - 60 кГц
частота модуляции УЗ-излучения	70 - 100 Гц
время озвучивания рабочего раствора	23 - 60 минут
40 относительная мощность УЗ-излучения	151 - 300 Вт/л

Затем биомассу микроводорослей *Chlorella vulgaris* высушивают при температуре 40 °C в течение 12 часов.

Пример 2.

Проводят аналогично Примеру 1, но со следующими значениями параметров 45 ультразвукового излучения:

частота озвучивания рабочего раствора	20 - 39 кГц
частота модуляции УЗ-излучения	10 - 74 Гц
время озвучивания рабочего раствора	10 - 44 минут

Затем биомассу микроводорослей *Chlorella vulgaris* высушивают при температуре 40 °С в течение 12 часов.

Пример 3.

Проводят аналогично Примеру 1, но со следующими значениями параметров ультразвукового излучения:

частота озвучивания рабочего раствора	10- 19 кГц
частота модуляции УЗ-излучения	1 - 9 Гц
время озвучивания рабочего раствора	1 - 9 минут
относительная мощность УЗ-излучения	10 - 39 Вт/л

Затем биомассу микроводорослей *Chlorella vulgaris* высушивают при температуре 40 °С в течение 12 часов.

С целью исследования влияния параметров ультразвукового излучения на размерные характеристики клеток биомассы микроводорослей *Chlorella vulgaris* образцы, выполненные по Примерам 1 - 3, исследовали методом атомно-силовой микроскопии. Также оценивали антиоксидантную активность суспензии микроводорослей *Chlorella vulgaris*. Оценку антиоксидантной активности проводили спектрофотометрическим методом на спектрофотометре СФ-56.

По результатам исследования с помощью метода атомно-силовой микроскопии получены микрофотографии образцов биомассы микроводорослей *Chlorella vulgaris* (фиг. 1 - 3).

Анализ фиг. 1 показал, что размер отдельных клеток образца биомассы микроводорослей *Chlorella vulgaris*, выполненного по Примеру 1, составляет порядка 0,6 - 1,2 мкм.

Анализ фиг. 2 показал, что размер отдельных клеток образца биомассы микроводорослей *Chlorella vulgaris*, выполненного по Примеру 1, составляет порядка 1,5 - 3 мкм.

Анализ фиг. 3 показал, что размер отдельных клеток образца биомассы микроводорослей *Chlorella vulgaris*, выполненного по Примеру 1, составляет порядка 3 - 6 мкм.

Результаты исследования антиоксидантной активности образцов биомассы микроводорослей *Chlorella vulgaris*, выполненных по Примерам 1 - 3, представлены на фиг. 4. Антиоксидантная активность образца биомассы микроводорослей *Chlorella vulgaris*, выполненного по Примеру 1, составила 87 мг/л в пересчете на галловую кислоту; образца биомассы микроводорослей *Chlorella vulgaris*, выполненного по Примеру 2 - 50 мг/л в пересчете на галловую кислоту; образца биомассы микроводорослей *Chlorella vulgaris*, выполненного по Примеру 3 - 18 мг/л в пересчете на галловую кислоту.

(57) Формула изобретения

Способ получения биомассы микроводорослей *Chlorella vulgaris*, характеризующийся тем, что микроводоросли *Chlorella vulgaris* помещают в питательную среду, содержащую следующий набор макро- и микроэлементов: *N, P, Mg, K, S, Fe, Cu, Ca, Mn и Mo*, при температуре 35–37 °С и pH=5,5–6,5, через 72 часа экспозиции дисперсию микроводорослей *Chlorella vulgaris* отделяют и измельчают с помощью дезинтеграции клеток микроводорослей *Chlorella vulgaris* путем воздействия ультразвукового излучения со следующими значениями параметров:

частота модуляции УЗ-излучения
время озвучивания рабочего раствора
относительная мощность УЗ-излучения

70–100 Гц
23–60 минут
151–300 Вт/л,

затем биомассу микроводорослей *Chlorella vulgaris* высушивают при температуре 40
5 °С в течение 12 часов.

10

15

20

25

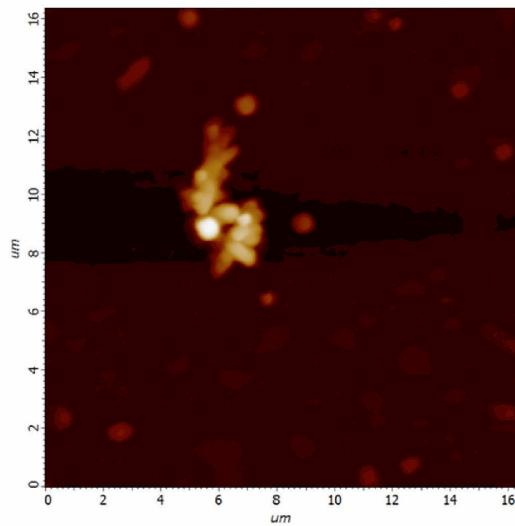
30

35

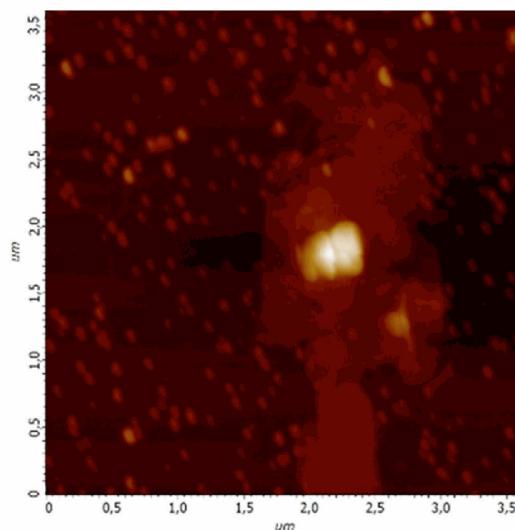
40

45

1

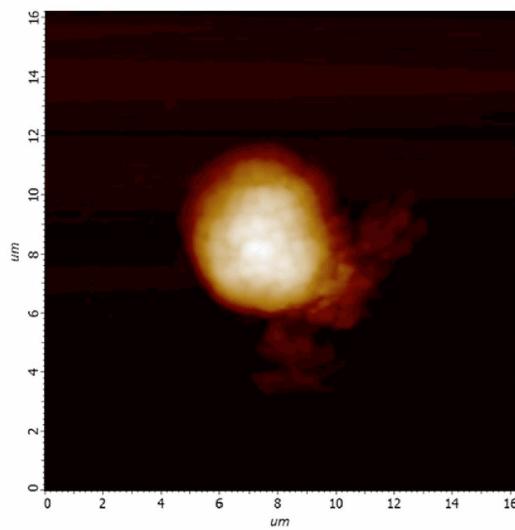


Фиг. 1 – ACM-микрофотография образца биомассы микроводорослей *Chlorella vulgaris*, выполненного по Примеру 1

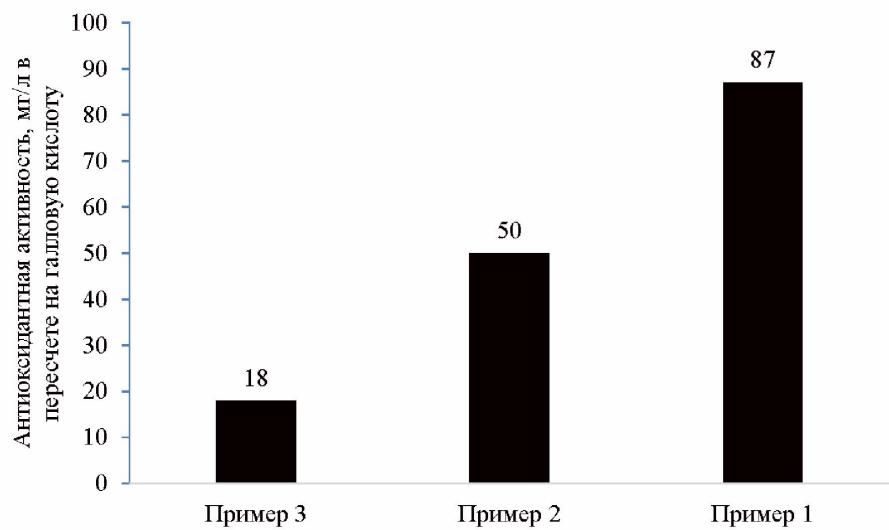


Фиг. 2 – ACM-микрофотография образца биомассы микроводорослей *Chlorella vulgaris*, выполненного по Примеру 2

2



Фиг. 3 – ACM-микрофотография образца биомассы микроводорослей *Chlorella vulgaris*, выполненного по Примеру 3



Фиг. 4 – Результаты исследования антиоксидантной активности образцов биомассы микроводорослей *Chlorella vulgaris*, выполненных по Примерам 1 – 3