



(51) МПК
C12N 1/12 (2006.01)
A61K 36/02 (2006.01)
C12R 1/89 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
C12N 1/12 (2024.01); *A61K 36/02* (2024.01); *C12R 2001/89* (2024.01)

(21)(22) Заявка: 2023135781, 27.12.2023

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
 27.12.2023

Дата регистрации:
 06.11.2024

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 27.12.2023

(45) Опубликовано: 06.11.2024 Бюл. № 31

Адрес для переписки:

690087, г. Владивосток, ул. Луговая, 52Б,
 ФГБОУ ВО "Дальрыбвтуз", каб. 210, Зуевой
 Л.Н.

(72) Автор(ы):

Пастухов Павел Олегович (RU),
 Политаева Анастасия Андреевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное
 образовательное учреждение высшего
 образования Дальневосточный
 государственный технический
 рыболово-промышленный университет (ФГБОУ
 ВО "Дальрыбвтуз") (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
 о поиске: ТРЕНКЕНШУ Р.П., ГЕВОРГИЗ
 Р.Г. "Технология промышленного
 культивирования спирулины (*Spirulina
 platensis*)"; национальная академия наук
 Украины, Институт биологии южных морей
 им. А.О.Ковалевского, 2004, Севастополь, с.1-
 16. ПОЛИТАЕВА А.А. "Опыт
 культивирования и получения биомассы
Arthrospira platensis в лабораторных условиях";
 Материалы (см. прод.)

(54) Способ получения биомассы спирулины (*Limnospira* sp.)

(57) Реферат:

Изобретение относится к биотехнологии. Предложен способ получения биомассы спирулины (*Limnospira* sp.), включающий выращивание культуры спирулины на питательной среде, отделение биомассы микроводорослей от питательной среды, затем отделенную биомассу микроводорослей

помещают в тканевую емкость с размером ячеи 23 мкм, промывают дистиллированной водой и подвергают дегидрированию на центрифуге при 1000-1350 об/мин в течение 5 мин. Изобретение обеспечивает сохранение биологической ценности биомассы спирулины к моменту употребления. 2 пр.

(56) (продолжение):

международной научно-технической конференции "Научно-практические вопросы регулирования рыболовства"; 20-21 мая 2021, Владивосток, с.11-114. ПУРЫГИН П.П. и др. "Определение токсичности и антиоксидантной активности биомассы спирулины платенсис и лекарственных форм на ее основе"; Вестник СамГУ, Естественнонаучная серия, 2007, N 6 (56), c.393-400. RU 2790921 C1, 28.02.2023. IOANNIS S. CHRONAKS "Gelation of edible blue-green algae protein isolate (*Spirulina platensis* strain pacifica): thermal transitions, rheological properties, and molecular forces involved"; Journal of agricultural and food chemistry, 2001, N 49, p.888-898.

RU 2 829 800 C1

RU 2 829 800 C1



(51) Int. Cl.
C12N 1/12 (2006.01)
A61K 36/02 (2006.01)
C12R 1/89 (2006.01)

FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC
C12N 1/12 (2024.01); *A61K 36/02* (2024.01); *C12R 2001/89* (2024.01)

(21)(22) Application: 2023135781, 27.12.2023

(24) Effective date for property rights:
 27.12.2023

Registration date:
 06.11.2024

Priority:

(22) Date of filing: 27.12.2023

(45) Date of publication: 06.11.2024 Bull. № 31

Mail address:
 690087, g. Vladivostok, ul. Lugovaya, 52B, FGBOU
 VO "Dalrybvtuz", kab. 210, Zuevoj L.N.

(72) Inventor(s):

Pastukhov Pavel Olegovich (RU),
 Politaeva Anastasiya Andreevna (RU)

(73) Proprietor(s):

Federalnoe gosudarstvennoe byudzhetnoe
 obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego
 obrazovaniya Dalnevostochnyj gosudarstvennyj
 tekhnicheskij rybokhozyajstvennyj universitet
 (FGBOU VO "Dalrybvtuz") (RU)

(54) METHOD OF PRODUCING SPIRULINA (LIMNOPIRA SPECIES) BIOMASS

(57) Abstract:

FIELD: biotechnology.

SUBSTANCE: disclosed is a method of producing spirulina (*Limnospira* sp.) biomass, comprising growing a culture of spirulina on a nutrient medium, separating the biomass of microalgae from the nutrient medium, then the separated microalgae biomass is placed in a fabric container with a mesh size of 23 mcm, washed

with distilled water and subjected to dehydration in centrifuge at 1,000-1,350 rpm for 5 minutes.

EFFECT: invention ensures preservation of biological value of spirulina biomass to the moment of consumption.

1 cl, 2 ex

RU 2829800 C1

RU 2829800 C1

Изобретение относится к фотобиотехнологии, а именно к получению биомассы спирулины, и может быть использовано в пищевой и кормовой промышленности, медицине, фармакологии.

Как известно, спирулина - это сине-зеленая водоросль, полностью отличающаяся от других видов водорослей, так как более близка к бактериям, чем к растениям, она скорее занимает нишу между бактериями и растениями. Это уникальный вид цианобактерии, богатый витаминами A1, B1, B2, B6, B12, С и Е, содержащий бета каротины, целый ряд минералов и основных аминокислот, жирные кислоты, антиоксиданты. Спирулина ценна для получения пищевых добавок, обладающих биологической активностью. Объем импорта БАДов на основе спирулины растет, что предопределяется внутренним спросом, при этом условия выращивания и производства продукции на основе спирулины, а также происхождение штаммов, остаются неизвестными. В импортируемых добавках, даже лучших из проанализированных образцов, часто заявленные производителем свойства спирулины, в том числе содержание белка, С-фикоцианина, хлорофилла- α и каротиноидов, не полностью соответствуют требованиям, предъявляемым для высококачественной биомассы спирулины, поскольку вероятны нарушения либо в технологическом процессе выращивания микроводорослей, либо на этапе высушивания и хранения [1]. Наибольшей биологической ценностью обладает спирулина, употребляемая в пищу в живом состоянии, т.к. при сушке биомасса теряет часть полезных свойств. В настоящее время, на территории России отсутствуют предприятия, которые выращивают в промышленных масштабах и реализуют живую спирулину, при этом ее востребованность в рыночном пространстве постоянно повышается благодаря содержанию целого ряда биологически активных веществ, обладающих антиоксидантными, противовоспалительными, радиопротекторными и иммуномодулирующими свойствами.

Известен способ получения спирулины, обогащенной ванадием, включающий культивирование штамма спирулины (*Spirulina platensis* (Nordst) Geitl) на среде Зарукка, в накопительном режиме при обычных условиях в течение 3-5 суток, в присутствии соли ванадия, дальнейшее отделение биомассы спирулины, фильтрование суспензии, промывание физиологическим раствором, лиофильную сушку и измельчение до получения порошка [2].

Известен способ получения сине-зеленої микроводоросли спирулина, обогащенной микроэлементами, представляющий собой выращивание штамма спирулины (*Spirulina platensis* (Nordst) Geitl) в течение 3-5 суток на питательной среде Зарукка, в накопительном режиме, при освещенности 12-15 тысяч эрг/см², температуре 28-30°C и pH среды 8,0-8,5, при постоянном барботаже углекислотой, с внесением в культивируемый объем CrCl₃·6H₂O в виде водного раствора, дальнейшее отделение биомассы спирулины, фильтрование суспензии, промывание физиологическим раствором, лиофильную сушку и измельчение до получения порошка [3].

Известен способ получения спирулины (*Spirulina platensis*), включающий выращивание штамма спирулины на питательной среде Зарукка, в квазинепрерывном режиме, при искусственном освещении лампой ДРЛ700 со средней облученностью рабочей поверхности 40 Вт/м², при температуре 32-34°C, дальнейшее отделение части биомассы спирулины, фильтрование суспензии через газ с ячеей 45 мкм, промывание дистиллированной водой, высушивание в сушильном шкафу при температуре 38°C и измельчение до получения порошка [4].

Недостатками этих способов является использование сублимационной (лиофильной) сушки, при которой биомасса спирулины теряет часть полезных свойств, например,

снижается содержание С-фикацианина. Кроме того, высушивание биомассы требует четкого соблюдения температурных режимов, так как при несоблюдении данных параметров потери пигментов могут составлять до 50%.

Наиболее близким к заявляемому техническому решению и достигаемому результату

- 5 является способ получения спирулины, включающий культивирование штамма спирулины на питательной среде, дальнейшее отделение части биомассы спирулины, промывание обычной пресной водой, сушку теплым воздухом при температуре не выше 60°C в течении 3-4 ч, не допуская попадание прямых солнечных лучей, предварительно нанеся биомассу тонким слоем на полиэтилен. Высушенную биомассу, готовую к
- 10 употреблению, помещают в герметичную тару, например, полиэтиленовые мешки, и хранят в темном месте при комнатной температуре [5].

Недостатком прототипа является снижение содержания хлорофилла а и каротиноидов в биомассе спирулины, что напрямую связанно с параметрами сушки, а также сроками и условиями хранения готовой биомассы.

- 15 Задачей заявляемого изобретения является разработка нового способа получения биомассы спирулины (*Limnospira sp.*) для употребления ее в живом состоянии.

Технический результат заявляемого способа заключается в исключении из технологии получения спирулины этапа сушки биомассы до сухого состояния, и использование процесса дегидрирования в течение минимально короткого времени, при оптимальной

- 20 мощности оборудования, что позволяет получить гелеобразный готовый продукт и сохранить его первоначальную биологическую ценность к моменту употребления.

Поставленная задача достигается тем, что в заявлении способе получения биомассы спирулины (*Limnospira sp.*), включающем выращивание культуры спирулины на питательной среде Заррука, последующее отделение биомассы микроводорослей от питательной среды с получением биомассы микроводорослей, промывание, получение готового к употреблению продукта, согласно изобретению, отделенную биомассу помещают в тканевую емкость из микробиологической сети с размером ячей 23 мкм, промывают дистиллированной водой и подвергают дегидрированию на центрифуге при 1000 - 1350 об/мин в течение 5 минут. После дегидрирования получают гелеобразную биомассу спирулины с содержанием влаги от 89 до 92%, готовую к употреблению.

Спирулина - многоклеточная нитчатая сине-зеленая водоросль. Нити представлены трихомами, сформированными простыми циклическими клетками от 1 до 12 мкм в диаметре и закрученными спирально. Нити подвижные, скользящие вокруг своей оси и не имеющие гетероцист. Длина их 300-500 мкм, ширина 5-10 мкм.

- 35 Опытным путем было установлено, что использование тканевой емкости из микробиологической сети с диаметром ячей 23 мкм позволяет удалять лишнюю жидкость и удерживать клетки спирулины в границах емкости. При использовании микробиологической сети с диаметром ячей 25 мкм потеря клеточной биомассы спирулины составляет от 5 до 10% и содержание влаги варьируется от 92 до 95%. При
- 40 использовании микробиологической сети с диаметром ячей более 25 мкм потеря клеточной биомассы спирулины составляет от 20% до 30%, а содержание влаги - от 93 до 96%.

Скорость центрифуги 1000 - 1350 об/мин в течение 5 минут позволяет при оптимальной мощности оборудования и за короткий промежуток времени достичь остаточной влажности биомассы от 89 до 92%, при этом не повреждая клетки спирулины. В аналогичных опытах при снижении скорости вращения центрифуги до 800 об/мин в течение 5 минут, остаточная влажность биомассы увеличивалась до 95%. При увеличении остаточной влажности биомассы срок ее хранения уменьшается. Увеличение времени

дегидрирования снижает продукционные характеристики биомассы, так как приводит к частичному или полному повреждению клеток спирулины.

При стартовом выращивании используется 5 литров питательной среды и 500 мл культуры спирулины. Выращиваемую биомассу можно начинать собирать уже через 5-7 дней после посадки в культиватор. Оставшаяся в культиваторе биомасса выращивается дальше с регулярной подкормкой культуры питательной средой Заррука в количестве эквивалентном изымаемому из культиватора, а также 2 раза в месяц производится смена биомассы на половину объема культиватора. Процесс культивирования непрерывный [5].

Полученную после дегидрирования биомассу спирулины рекомендовано употреблять в пищу в суточной дозировке от 2 до 10 мл (0,4-2 ч.л.) в сутки. Возможно также применение спирулины наружно, например, в косметологии. Хранят полученную спирулину в вакуумной упаковке в холодильной камере при температуре от 2 до 5°C в течение 6 месяцев, в замороженном виде в морозильной камере при температуре от -24°C до -18°C в течение 24 месяцев. Для достижения максимального срока хранения спирулины - в течение 48 месяцев, рекомендуется использовать шоковую заморозку при температуре от -30 до -40°C. Содержимое пакета после разморозки необходимо употребить в течении не более чем 2-3 часов, после вскрытия пакета- в течение 20-30 минут.

Способ осуществляется следующим образом:

Начальный инокулят штамма спирулины (*Limnospira sp.*) в количестве 500 мл добавляют в культиватор с 5 л питательной среды Зарукка, выращивание осуществляют в течение 5-7 суток в накопительном режиме, с использованием люминесцентных ламп Philips LTD белого спектра свечения мощностью 18 Вт, при температуре 25-27°C и постоянным барботированием среды атмосферным воздухом. К 5-7 дню получают в среднем 0,3-0,51 г/л биомассы (1,5-2,55 г с 5 литров в пересчете на сухое вещество). Из микробиологической сети с размером ячей 23 мкм изготавливают тканевую емкость размером 15×20 см и фиксируют пищевым kleem по периметру культиватора. Культуру спирулины собирают с поверхности культиватора в тканевую емкость, затем промывают тканевую емкость дистиллированной водой и устанавливают в центрифугу, где при 1000 - 1350 об/мин в течение 5 минут дегидрируют биомассу, отделяя клетки спирулины от культуральной жидкости. Получают от 2,42-3,44 мл биомассы с содержанием влаги от 89 до 92%. Биомасса спирулины, извлеченная из тканевой емкости, имеет гелеобразную консистенцию и готова к употреблению.

Изобретение подтверждается конкретными примерами.

Пример 1.

Начальный инокулят штамма спирулины (*Limnospira sp.*) в количестве 500 мл добавляют в культиватор с 5 л питательной среды Зарукка, выращивают культуру в течение 5-7 суток в накопительном режиме, с использованием люминесцентных ламп Philips LTD белого спектра свечения мощностью 18 Вт, при температуре 25°C и постоянным барботированием среды атмосферным воздухом. К 7 дню получают в среднем 0,4 г/л (2 г в 5 л) биомассы, которую собирают с поверхности культиватора в тканевую емкость из микробиологической сети с размером ячей 23 мкм, затем промывают тканевую емкость дистиллированной водой и помещают в бытовую центрифугу, где при 1000 об/мин в течение 5 минут дегидрируют биомассу. Получают 2,92 мл биомассы гелеобразной консистенции зеленого цвета с содержанием влаги 92%. Биомасса готова к употреблению.

Пример 2.

Выращивание культуры спирулины (*Limnospira sp.*) осуществляют как в примере 1. К 7 дню получают 0,51 г/л (2,55 г в 5 л) биомассы, которую собирают с поверхности культиватора в тканевую емкость из микробиологической сети с размером ячей 23 мкм, затем промывают дистиллированной водой и помещают в бытовую центрифугу, где 5 при 1350 об/мин в течение 5 минут дегидрируют биомассу. Получают 3,44 мл биомассы гелеобразной консистенции зеленого цвета с содержанием влаги 89%. Биомасса готова к употреблению.

Список литературы:

1. Гудвилович И.Н., Боровков А.Б. Биологическая ценность БАД на основе спирулины. Бюллетень Государственного Никитского ботанического сада. 2012. Вып. 105, с. 130-133.
- 10 2. Патент на изобретение РФ № 2198215, МПК C12N1/12, опубл. 10.02.2003, Бюл. № 4.
- 15 3. Патент на изобретение РФ № 2144078, МПК C12N1/12, A61K35/80, опубл. 10.01.2000, Бюл. № 1.
4. Геворгиз Р.Г., Береговая Н.М. Влияние температуры экстрагента на извлечение с-фикацинина из спирулины. Актуальные проблемы аквакультуры в современный период: Материалы Международной научной конференции, 28 сентября - 2 октября 2015 г. Изд-во: ФГБНУ «АзНИИРХ», 2015, с. 40-43.
- 20 5. Тренкеншу Р.П., Геворгиз Р.Г. Технология промышленного культивирования спирулины (*Spirulina platensis*). Национальная академия наук Украины. Институт биологии Южных морей им. А.О. Ковалевского, г. Севастополь, 2004, с. 6-8.

(57) Формула изобретения

Способ получения биомассы спирулины (*Limnospira sp.*), включающий выращивание культуры спирулины на питательной среде, отделение биомассы микроводорослей от питательной среды, промывание, получение готовой к употреблению биомассы, отличающийся тем, что отделенную биомассу микроводорослей помещают в тканевую емкость с размером ячей 23 мкм, промывают дистиллированной водой и подвергают 25 дегидрированию на центрифуге при 1000-1350 об/мин в течение 5 мин.

35

40

45