

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202293145** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2024.05.31

(51) Int. Cl. *A23J 3/20* (2023.01)
A23J 3/34 (2023.01)
C12P 21/06 (2023.01)

(22) Дата подачи заявки
2022.11.28

(54) **СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ МИКРОБНОГО ПРОТЕИНА ИЗ МИКРОБНОЙ БИОМАССЫ ПРОДУЦЕНТА МЕТАНОКИСЛЯЮЩИХ БАКТЕРИЙ ФЕРМЕНТАТИВНЫМ МЕТОДОМ**

(96) **2022000112 (RU) 2022.11.28**

(71) Заявитель:
ООО "ГИПРОБИОСИНТЕЗ" (RU)

(72) Изобретатель:

**Нюньков Павел Андреевич, Цымбал
Владимир Владимирович, Голышева
Татьяна Геннадьевна, Гончарук
Александра Андреевна, Куликова
Наталья Леонидовна, Тимошенко
Ксения Андреевна (RU)**

(74) Представитель:
Ратова Е.Н. (RU)

(57) Изобретение относится к биотехнологии. Способ получения микробного протеина из микробной биомассы продуцента метанооксиляющих бактерий ферментативным методом осуществляют следующим образом. На первом этапе получают концентрат денуклеинизированной биомассы из нативной биомассы в виде суспензии метанооксиляющих бактерий с СВ 10-12%, рН которой доводят до 3,0-3,5 серной кислотой концентрацией от 45 до 50%. Нагревают ее при постоянном перемешивании с кратностью циркуляции от 30 до 40 ч⁻¹ при температуре 75-85°C. Суспензию доводят до рН от 8,5 до 9,5 добавлением щелочного раствора и поддержанием температуры от 85 до 95°C. Выдерживают суспензию в течение от 1 до 2 ч до получения щелочного экстракта, фильтруют на фильтре с диаметром пор 0,1-0,7 мкм под давлением 3-8 бар и промывают осмотической водой до 85-90% для удаления нуклеиновых компонентов с получением концентрата денуклеинизированной биомассы (ДНБМ). На втором этапе осуществляют процесс гидролиза, где полученный концентрат смешивают в реакторе с комплексным ферментным препаратом, включающим амилазы, липазы и протеазы из расчета 30-35 г по сухому веществу концентрата на 7000 ед. по амилазе комплексного ферментного препарата. Выдерживают суспензию при температуре 35-55°C и нейтральном рН при постоянном перемешивании с кратностью циркуляции 30-40 ч⁻¹ до достижения стабилизации концентрации белка. На третьем этапе проводят инактивацию полученной суспензии путем повышения температуры до 85-95°C в течение 30-60 мин, с последующей фильтрацией на фильтре с диаметром пор 0,1-0,7 мкм под давлением 3-8 бар с получением концентрата денуклеинизированной биомассы и фильтрата, содержащего протеин микробный. Концентрат и фильтрат высушивают до получения порошкообразного продукта. Изобретение обеспечивает повышение качества протеина микробного за счет чистоты полученного продукта путем исключения вредных примесей, с высоким содержанием белка не менее 88%.

A1

202293145

202293145

A1

Способ получения микробного протеина из микробной биомассы продуцента метаноксиляющих бактерий ферментативным методом

Изобретение относится к способам получения микробного протеина ферментативным способом с высоким содержанием белка.

Как известно ферментация — это процесс, в котором происходит преобразование исходного сырья в продукт с использованием биохимической деятельности микроорганизмов или изолированных клеток.

Содержащие белок природные продукты и продукты расщепления растительного и животного происхождения могут быть разнообразными способами подготовлены для дальнейшего использования. Как правило, для этого необходимо, с одной стороны, экстрагировать белок из клетки носителя, а с другой стороны, удалить мешающие примеси.

Известен гидролиз белков, который за счет добавления кислот или щелочей под воздействием температуры ведет к образованию смеси аминокислот. После расщепления белка необходимо нейтрализовать раствор. Расщепление белков можно проводить также ферментативно, с помощью протеаз микробного происхождения.

Из уровня техники известны функциональные протеиновые гидролизаты, способ их получения, использование этих протеиновых гидролизатов в качестве пищевых добавок и продукты, содержащие эти протеиновые гидролизаты (US4627983 (A), A23J3/00; A23L1/305; C12P21/06, 1986.12.09). Способ получения функционального гидролизата включает следующие этапы в указанном порядке: снижение содержания нуклеиновых кислот и липидов в микробном белке путем двухэтапной экстракционной обработки белка с использованием метанола/аммиака и воды; формирование суспензии микробного белка в воде, указанная суспензия имеет содержание твердых веществ от 10 до 20% по массе и рН от 7,0 до 8,0; ферментативный гидролиз микробного белка путем контактирования суспензии с эндопротеазой в массовом соотношении эндопротеазы к суспензии от 1:500 до 1:1000 при рН от 7,0 до 8,0; дезактивация эндопротеазы, ультрафильтрация образовавшегося гидролизата белка для получения пермеата и ретентата, при этом пермеат или ретентат представляют собой функциональный гидролизат. В качестве микробного белка применяется бактериальный белок.

Однако использование метанола (токсичного вещества) требует дополнительной тщательной очистки от его остаточных концентраций в продукте и более жесткого контроля получаемого гидролизата на острую и хроническую токсичность.

Известен гидролизат микробного белка, способ его получения и применения, который включает следующие этапы: берут влажный или сухой микробный белок, добавляют воду, которая в 2-4 раза превышает количество микробного белка, равномерно перемешивают, добавляют сложную протеазу, которая составляет 0,02-0,05% от массы микробного белка, перемешивают и контролируют температуру ферментативного гидролиза при 45-55°C и значение рН 2,5-3,5. Далее проводят ферментативный гидролиз в течение 10-12 часов, нагревают до кипения и

инактивируют, фильтруют, и обесцвечивают с использованием активированного угля для получения раствора ферментативного белка, который представляет собой гидролизат микробного белка. После получения раствора ферментативного гидролизованного белка его концентрируют в вакууме до пастообразного продукта с содержанием воды 17% -21%. Пастообразный продукт сушат распылением с получением порошкового продукта с содержанием воды от 3% до 7%, порошкообразный продукт обычно гранулируют с получением гранулированного продукта (CN102696856 (B), A23J3/00; A23J3/34; A23L1/305; A23L27/21, 2014.01.15).

К недостаткам известного способа относится длительность проведения процесса ферментации, более того, полученный гидролизат содержит значительные концентрации нуклеиновых кислот и минеральных веществ, т.к. отсутствует стадия очистки от них получаемого продукта. Помимо прочего получаемый продукт отличается повышенной кислотностью, что ограничивает его применение.

Известны композиции гидролизатов микробных белков, получаемые путем обработки биомассы, например, микробной биомассы, посредством комбинации физических, химических и/или ферментативных обработок, и способы их получения. (WO2021055366 (A1), A23L33/135; A61K31/00; A61K31/733, 2021.03.25). Получение белкового гидролизата включает этапы: (a) культивирование клеток микроорганизмов в культуральной среде с получением таким образом микробной биомассы, содержащей микробный белок; (b) сбор микробной биомассы; (c) получение композиции суспензии биомассы из собранной микробной биомассы, в которой композиция суспензии биомассы содержит микробный белок; (d) регулирование рН композиции суспензии биомассы до рН в пределах первого целевого диапазона рН, по меньшей мере, около 10, если необходимо, добавлением одного или более оснований, выбранных из гидроксида калия, гидроксида аммония, аммиака, гидроксида кальция и гидроксида натрия. Композиция суспензии биомассы, полученная на стадии (c), или композиция суспензии с скорректированным рН, полученная на стадии (d), представляет собой композицию щелочной суспензии; (e) нагревание композиции щелочной суспензии при давлении, по меньшей мере, около 15 фунтов на квадратный дюйм до первой температуры, по меньшей мере, около 40°C в течение первого периода времени, по меньшей мере, около 5 минут, тем самым получая суспензию щелочного гидролизата, которая содержит гидролизованный микробный белок, (f) отделение жидкой надосадочной жидкости от твердого материала в суспензии щелочного гидролизата, где надосадочная жидкость содержит растворимый гидролизованный микробный белок.

Однако продукт, получаемый известным способом отличается большой концентрацией минеральных веществ (зольности), т.к. отсутствует стадия удаления гидролизующих и нейтрализующих кислот и щелочей, а также отсутствие стадии удаления нуклеиновых кислот, высокая концентрация которых при частом употреблении может привести к отложению солей в организме. Оба этих фактора значительно снижают дневную дозу полученного таким методом гидролизата.

Технической задачей настоящего изобретения является разработка способа получения протеина микробного ферментативным методом из микробной биомассы, без вредных примесей.

Техническим результатом изобретения является повышение качества протеина микробного за счет чистоты полученного продукта, путем исключения вредных примесей, с высоким содержанием белка не менее 88 %.

Техническая проблема решается, а технический результат достигается за счет того, что способ получения микробного протеина из микробной биомассы продуцента метанооксиляющих бактерий ферментативным методом осуществляют путем культивирования клеток полученной микробной биомассы, содержащей микробный белок, регулированием pH среды с помощью щелочи, нагрева и фильтрации. *Согласно изобретению* на первом этапе получают концентрат денуклеинизированной биомассы из нативной биомассы в виде суспензии метанооксиляющих бактерий с СВ 10-12%, pH которой доводят до 3,0-3,5 серной кислотой концентрацией от 45% до 50%, затем ее нагревают при постоянном перемешивании с кратностью циркуляции от 30 до 40 ч⁻¹ при температуре 75-85°C, после чего суспензию доводят до pH от 8,5 до 9,5 добавлением щелочного раствора и поддержанием температуры от 85°C до 95°C, выдерживая суспензию в течение от 1 до 2 часов до получения щелочного экстракта, который фильтруют на фильтре с диаметром пор 0,1-0,7 мкм под давлением 3-8 бар, промывают осмотической водой до 85-90% для удаления нуклеиновых компонентов, с получением концентрата денуклеинизированной биомассы (ДНБМ). На втором этапе осуществляют процесс гидролиза, где полученный концентрат смешивают в реакторе с комплексным ферментным препаратом, включающим амилазы, липазы и протеазы из расчета 30-35 г по сухому веществу концентрата на 7000 ед. по амилазе комплексного ферментного препарата, выдерживают суспензию при температуре 35-55°C и нейтральном pH при постоянном перемешивании с кратностью циркуляции 30-40 ч⁻¹ до достижения стабилизации концентрации белка. На третьем этапе проводят инактивацию полученной суспензии путем повышения температуры до 85-95°C в течение 30-60 мин, с последующей фильтрацией на фильтре с диаметром пор 0,1-0,7 мкм под давлением 3-8 бар с получением концентрата денуклеинизированной биомассы и фильтрата, содержащего протеин микробный. Концентрат и фильтрат высушивают до получения порошкообразного продукта.

На первом этапе суспензию доводят до pH от 8,5 до 9,5 добавлением щелочного раствора гидроксида натрия или аммиака.

Остатки суспензии смывают осмотической водой с фильтров на первом этапе процесса, для дальнейшего заполнения ею реактора до рабочего объема.

Реактор на втором этапе заполняют от 60% до 80% объема реактора. На стадии инактивации время проведения процесса контролируют по содержанию посторонних микроорганизмов.

При проведении обработки нативной биомассы 45-50% серной кислотой необходим для обеспечения реологических свойств суспензии, облегчающих процесс фильтрования. При этом если pH раствора менее 3,0 происходит окисление и разрушение бактериальных клеток, что затрудняет дальнейшее удаление нуклеиновых компонентов и увеличивает потери белковой фракции, а при pH выше 3,5 возможно повышение вязкости суспензии после щелочного гидролиза.

Проведение нагрева суспензии до температуры 75-85°C, приводит к снижению вязкости суспензии, дальнейшее нагревание суспензии в кислотной среде нецелесообразно, т.к. может привести к окислению и разрушению бактериальных

клеток, что затрудняет дальнейшее удаление нуклеиновых компонентов и увеличивает потери белковой фракции.

Кратность циркуляции 30-40 ч⁻¹ подобрана опытным путем и способствует обеспечению интенсивного массообмена без застойных зон, без излишнего пенообразования, с высокой скоростью нагрева суспензии от термоэлементов.

Доведение рН суспензии до 8,5-9,5 добавлением щелочного раствора гидроксида натрия или аммиака, а также повышение температуры до 85-95°C и проведение реакции в течение 1-2 часов необходимо для выделения нуклеиновых компонентов без разрушения бактериальных клеток.

Проведение микрофльтрации в установке микрофльтрации на фильтре с диаметром пор 0,1-0,7 мкм под давлением 3-8 бар обеспечивает высокое разделение фильтрата и концентрата.

Выбор фильтров с диаметром пор 0,1-0,7 мкм и режимов фильтрации обусловлен размером бактериальных клеток и продуктов их гидролиза.

Промывание осмотической водой в условиях микрофльтрации производят до 85-90% удаления нуклеиновых компонентов с получением концентрата денуклеинизированной биомассы (ДНБМ), позволяет снизить содержание в готовом продукте нуклеиновых компонентов и экстрагирующих веществ.

На втором этапе способа происходит процесс получения протеина микробного. Рабочий объем реактора задается его конструктивными особенностями. При заполнении реактора меньше 60% рабочего объема начинается излишнее вспенивание, а при превышении объема свыше 80% от объема реактора, нарушается процесс массообмена, образующаяся пена может превысить воздушный объем реактора и вытечь из него

Нагрев полученного концентрата на втором этапе до 35-50°C необходим для достижения оптимальной температуры гидролиза.

Использование ферментного комплексного препарата, содержащего амилазы, липазы и протеазы в количестве 7000 ед. (по амилазе) на 30-35 г субстрата по сухому веществу в суспензии ДНБМ обусловлено наибольшей эффективностью гидролиза субстрата и выделению белка в раствор.

На этапе инактивации температуру суспензии поднимают до 85-95°C, для исключения ферментативной активности в протеине микробном и уничтожения всех форм живых микроорганизмов

Продолжительность процесса инактивации в течение 30-60 мин обусловлено тем, что для пищевых продуктов это 10⁴ КОЕ, при нагреве менее 30 мин содержание живых микроорганизмов в готовом продукте может превысить допустимое значение, а увеличение времени нагрева свыше 60 мин - нецелесообразно.

Изобретение осуществляется следующим образом.

Нативную биомассу загружают в реактор, серной кислотой концентрацией 45-50% доводят рН от 3,0 до 3,5, с получением суспензии. Полученную суспензию нагревают при постоянном перемешивании кратностью циркуляции 30-40 ч⁻¹ до температуры 75-85°C. Затем в суспензию добавляют щелочной раствор (гидроксида натрия или аммиака) с доведением рН до 8,5-9,5. Суспензию нагревают до температуры 85-95°C и выдерживают 1-2 часа при постоянном перемешивании с получением щелочного экстракта.

Далее щелочной экстракт перегружают в установку микрофльтрации с диаметром пор 0,1-0,7 мкм (давление процесса фильтрации поддерживают 3-8 бар), после максимального концентрирования промывают осмотической водой до 85-90% удаления нуклеиновых компонентов с получением концентрата денуклеинизированной биомассы (ДНБМ). Содержания нуклеиновых компонентов в исходной суспензии и суспензии ДНБМ в % от сухого веса, отношение содержания нуклеиновых кислот в ДНБМ к содержанию нуклеиновых кислот в исходной биомассе позволяет оценить процент удаления нуклеиновых кислот.

ДНБМ из микрофльтрационной установки перегружают в реактор использованный на предыдущем этапе и подготовленный к повторной загрузке, остатки суспензии смывают с фильтров осмотической водой до заполнения рабочего объема реактора от 60% до 80%.

Гидролиз суспензии осуществляют при температуре для ферментов микробного (растительного) происхождения от 45°C до 55°C, а для ферментов животного происхождения от 35°C до 40°C, при нейтральном рН. Загружают комплексный ферментный препарат содержащий амилазы, липазы и протеазы из расчета на 30-35 г субстрата по СВ 7000 ед. (по амилазе) Содержание СВ - сухих веществ (соотношение ферментный препарат/субстрат было установлено экспериментально, снижение приводит в уменьшению эффективности выделения белка, увеличение не приводит к положительному эффекту, т.е. нецелесообразно). Процесс гидролиза продолжают до достижения стабилизации концентрации белка

Полученный экстракт далее подвергают инактивации, для чего температуру суспензии повышают до 85-95°C, процесс продолжают в течение 30-60 мин. Продолжительность процесса определяют минимальным содержанием посторонних микроорганизмов.

Полученную суспензию перегружают в установку микрофльтрации с диаметром пор 0,1-0,7 мкм (давление процесса 3-8 бар), после концентрирования промывают осмотической водой для наиболее полного извлечения белка из суспензии в фильтрат (раствор протеина микробного).

Полученный концентрат депротеинизированной денуклеинизированной биомассы (ДПДНБМ) смывают с установки осмотической водой и передают на сушку.

Полученный фильтрат (раствор содержащий протеин микробный) также сушат с получением готового продукта.

Изобретение иллюстрируется следующими примерами.

Пример 1

Нативную биомассу объемом 40 л (СВ 11%) загружали в реактор, серной кислотой (46 %) доводили до рН= 3,0, полученную суспензию нагревали при постоянном перемешивании кратностью циркуляции 30 ч⁻¹.

При достижении температуры 75°C, в суспензию добавляли щелочной раствор (гидроксида аммиака) до рН 8,5, температура 87°C суспензии поддерживали 1 час. Затем щелочной экстракт перегружали в установку микрофльтрации с диаметром пор 0,45 мкм (давление процесса 3 бар), после максимального концентрирования промывали осмотической водой 5 раз до 85% для удаления нуклеиновых компонентов с получением концентрата денуклеинизированной биомассы (ДНБМ).

ДНБМ из микрофльтрационной установки перегружали в реактор, остатки суспензии смывали с фильтров 40 л осмотической воды. Устанавливали температуру

суспензии ДНБМ 42°C, загружали 16 г комплексного ферментного препарата содержащего амилазы, липазы и протеазы. Процесс гидролиза продолжают 1,0 час при постоянной температуре и перемешивании (кратностью циркуляции 30 ч⁻¹).

Процесс инактивации проводили при температуре 85°C, в течение 30 мин.

Полученную суспензию перегружали в установку микрофльтрации с диаметром пор 0,45 мкм (давление процесса 3 бар), после концентрирования промывали 10 л осмотической воды. Полученный концентрат депротеинизированной денуклеинизированной биомассы (ДПДНБМ) смывали с установки 10 л осмотической воды и передали на сушку. Полученный фильтрат (раствор содержащий протеин микробный) также передают на сушку.

В результате, после сушки белкового раствора было получено 750 г протеина микробного с содержанием белка 92% и влажностью 5,6% и порошок высушенного концентрата ДПДНБМ 2110 г с содержанием белка 67% и влажностью 5,4%.

Пример 2

Осуществление процесса получения микробного протеина осуществляли аналогично примеру 1, но с другими режимами.

Брали нативную биомассу объемом 35 л (СВ 12%).

Серной кислотой (48 %) доводили до рН 3,5.

Суспензию нагревали при постоянном перемешивании кратностью циркуляции 40 ч⁻¹.

При достижении температуры 85°C, в суспензию добавляли щелочной раствор (гидроксида аммиака) до рН 9,5, повышали температуру 85°C и поддерживали 2 час.

Щелочной экстракт перегружали в установку микрофльтрации с диаметром пор 0,45 мкм (давление процесса 5 бар).

После максимального концентрирования промывали осмотической водой 6 раз до 93% удаления нуклеиновых компонентов с получением концентрата денуклеинизированной биомассы (ДНБМ).

ДНБМ из микрофльтрационной установки перегружали в реактор, остатки суспензии смывали с фильтров 40 л осмотической воды. Устанавливали температуру суспензии ДНБМ 37°C, загружали 12 г комплексного ферментного препарата содержащего амилазы, липазы и протеазы. Гидролиз вели 30 мин.

Процесс инактивации проводили при температуре 91°C, в течение 60 мин.

Полученную суспензию перегружали в установку микрофльтрации. После сушки концентрата ДПДНБМ и фильтрата было получено 650 г протеина микробного с содержанием белка 93% и влажностью 5,2% и порошок 2016 г ДПДНБМ с содержанием белка 66% и влажностью 5,0%.

Пример 3

Пример осуществляли аналогично примеру 1 и 2.

Объем нативной биомассы 42 л (СВ 10,5%).

Серной кислотой (45%) доводили до рН 3,3.

Полученную суспензию нагревали при постоянном перемешивании кратностью циркуляции 45 ч⁻¹.

При достижении температуры 80°C, в суспензию добавляли щелочной раствор (гидроксида натрия) до рН 9,0.

Температуру 95°C суспензии поддерживали 1,5 часа.

ДНБМ из микрофльтрационной установки перегружали в реактор, остатки суспензии смывают с фильтров 40 л осмотической воды. Устанавливали температуру суспензии ДНБМ 38°C, загружали 17 г комплексного ферментного препарата содержащего амилазы, липазы и протеазы, процесс гидролиза продолжают 40 мин при постоянной температуре и перемешивании (кратностью циркуляции 35 ч⁻¹).

Процесс инактивации проводили при температуре 95°C, в течение 45 мин.

Полученную суспензию перегружают в установку микрофльтрации с диаметром пор 0,01 мкм (давление процесса 4 бар), после концентрирования промывают 10 л осмотической воды. Полученный концентрат ДПДНБМ смывали с установки 10 л осмотической воды и передали на сушку.

Полученный фильтрат (раствор содержащий протеин микробный) также сушили.

Было получено 790 г протеина микробного с содержанием белка 94% и влажностью 4,9% и порошок 2120 г ДПДНБМ с содержанием белка 66% и влажностью 5,0%.

	Содержание белка, %	Содержание влаги, %
Пример 1 Продукт	92	5,6
Пример 2 Продукт	93	5,2
Пример 3 Продукт	94	4,9

Как видно из приведенных примеров, способ получения протеина микробного ферментативным методом позволяет получать продукт с содержанием белка не менее 88% из микробной биомассы, которая в отличие от растительного сырья не содержит пестицидов и антипитательных веществ.

Формула изобретения

1. Способ получения микробного протеина из микробной биомассы продуцента метанооксиляющих бактерий ферментативным методом, путем культивирования клеток полученной микробной биомассы, содержащей микробный белок, регулирования рН среды с помощью щелочи, нагрева и фильтрации, отличающийся тем, что на первом этапе получают концентрат денуклеинизированной биомассы из нативной биомассы в виде суспензии метанооксиляющих бактерий с СВ 10-12%, рН которой доводят до 3,0-3,5 серной кислотой концентрацией от 45 до 50%, затем ее нагревают при постоянном перемешивании с кратностью циркуляции от 30 до 40 ч⁻¹ при температуре 75-85°С, после чего суспензию доводят до рН от 8,5 до 9,5 добавлением щелочного раствора и поддержанием температуры от 85 до 95°С, выдерживая суспензию в течение от 1 до 2 ч до получения щелочного экстракта, который фильтруют на фильтре с диаметром пор 0,1-0,7 мкм под давлением 3-8 бар, промывают осмотической водой до 85-90% для удаления нуклеиновых компонентов, с получением концентрата денуклеинизированной биомассы (ДНБМ), на втором этапе осуществляют процесс гидролиза, где полученный концентрат смешивают в реакторе с комплексным ферментным препаратом, включающим амилазы, липазы и протеазы из расчета 30-35 г по сухому веществу концентрата на 7000 ед. по амилазе комплексного ферментного препарата, выдерживают суспензию при температуре 35-55°С и нейтральном рН при постоянном перемешивании с кратностью циркуляции 30-40 ч⁻¹ до достижения стабилизации концентрации белка, на третьем этапе проводят инактивацию полученной суспензии путем повышения температуры до 85-95°С в течение 30-60 мин, с последующей фильтрацией на фильтре с диаметром пор 0,1-0,7 мкм под давлением 3-8 бар с получением концентрата денуклеинизированной биомассы и фильтрата, содержащего протеин микробный, концентрат и фильтрат высушивают до получения порошкообразного продукта.

2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что на первом этапе суспензию доводят до рН от 8,5 до 9,5 добавлением щелочного раствора гидроксида натрия или аммиака.

3. Способ по п. 1, отличающийся тем, что остатки суспензии смывают осмотической водой с фильтров на первом этапе процесса, для дальнейшего заполнения ею реактора до рабочего объема.

4. Способ по п. 1, отличающийся тем, что реактор на втором этапе заполняют от 60 до 80% объема реактора.

5. Способ по п. 1, отличающийся тем, что на стадии инактивации время проведения процесса контролируют по содержанию посторонних микроорганизмов.

ОТЧЕТ О ПАТЕНТНОМ ПОИСКЕ

(статья 15(3) ЕАПК и правило 42 Патентной инструкции к ЕАПК)

Номер евразийской заявки:

202293145**А. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ:**

A23J 3/20 (2006.01)
 A23J 3/34 (2006.01)
 C12P 21/06 (2006.01)

Согласно Международной патентной классификации (МПК)

Б. ОБЛАСТЬ ПОИСКА:

Просмотренная документация (система классификации и индексы МПК)
 A23J 3/20, 3/34, C12P 21/06

Электронная база данных, использовавшаяся при поиске (название базы и, если возможно, используемые поисковые термины)
 Espacenet, ЕАПАТИС, ЕРОQUE Net, Reaxys, Google

В. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ

Категория*	Ссылки на документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
A	RU 2720121 C1 (ООО "ГИПРОБИОСИНТЕЗ") 24.04.2020, формула, реферат	1-5
A	RU 2687135 C1 (ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ "ГИПРОБИОСИНТЕЗ") 07.05.2019, пример 4	1-5
A	ТИМОШЕНКО К. А. и др. Получение денуклеинизированной биомассы и фрагментов ДНК и РНК путем глубокой переработки биомассы бактерий <i>methylococcus carculatus</i> штамма ГБС 15. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии, N 8, т.20, 2017, страницы 3-5	1-5
A	US 4627983 A (HOECHST AKTIENGESELLSCHAFT) 09.12.1986, формула	1-5
A	CN 102696856 A (CHANGQING MA) 03.10.2012, реферат	1-5
A	WO 2021/055366 A1 (KIVERDI, INC.) 25.03.2021, формула, реферат	1-5
A	WO 2018/115042 A1 (UNIBIO A/S) 28.06.2018, формула	1-5
A	ТИМОШЕНКО К.А. Выделение нуклеиновых компонентов из бактериальной биомассы в процессе ее комплексной переработки. Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата технических наук. Щелково, 2016, страницы 9-13, 18-23	1-5
X, P	RU 2781287 C1 (ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ "ГИПРОБИОСИНТЕЗ") 11.10.2022	1-5

 последующие документы указаны в продолжении

* Особые категории ссылочных документов:

«А» - документ, определяющий общий уровень техники

«D» - документ, приведенный в евразийской заявке

«E» - более ранний документ, но опубликованный на дату подачи евразийской заявки или после нее

«O» - документ, относящийся к устному раскрытию, экспонированию и т.д.

"P" - документ, опубликованный до даты подачи евразийской заявки, но после даты испрашиваемого приоритета"

«Т» - более поздний документ, опубликованный после даты приоритета и приведенный для понимания изобретения

«X» - документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий новизну или изобретательский уровень, взятый в отдельности

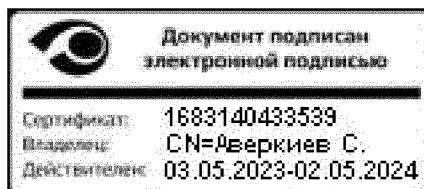
«Y» - документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий изобретательский уровень в сочетании с другими документами той же категории

«&» - документ, являющийся патентом-аналогом

«L» - документ, приведенный в других целях

Дата проведения патентного поиска: 23 июня 2023 (23.06.2023)

Уполномоченное лицо:
 Начальник Управления экспертизы



С.Е. Аверкиев