



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

C12P 7/56 (2006.01); C12N 1/20 (2006.01); B01J 19/10 (2006.01)

(21)(22) Заявка: 2017142260, 05.12.2017

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
05.12.2017Дата регистрации:
04.09.2018

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 05.12.2017

(45) Опубликовано: 04.09.2018 Бюл. № 25

Адрес для переписки:

107113, Москва, ул. Русаковская, 25, кв. 147,
Акопян В.Б.

(72) Автор(ы):

Ачильдиев Георгий Евгеньевич (RU),
Акопян Валентин Бабкенович (RU),
Бондаренко Галина Алексеевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Общество с ограниченной ответственностью
ООО "Инжиниринговый центр "Зеленая
химия" (RU)(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: RU 2612152 C2, 02.03.2017. RU
2175014 C2, 20.10.2001. RU 2574783 C2,
10.02.2016. WO 2012/140223 A1, 18.10.2012.

(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ МОЛОЧНОЙ КИСЛОТЫ

(57) Реферат:

Изобретение относится к области биохимии. Предложен способ получения молочной кислоты из сахаросодержащих продуктов и отходов их переработки. Способ включает осуществление ферментации сахаросодержащих продуктов и отходов их переработки молочнокислыми бактериями. При ферментации образующуюся молочную кислоту переводят в лактат кальция

путем добавления гидроксида кальция в культуральную среду, а после ферментации культуральную среду сатируют двуокисью углерода с использованием излучаемого гидроакустическим излучателем ультразвука для восстановления молочной кислоты. Изобретение обеспечивает сокращение времени обработки культуральной жидкости. 2 пр.

RU 2 665 842 C1

RU 2 665 842 C1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
C12P 7/56 (2006.01)
C12N 1/20 (2006.01)
B01J 19/10 (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

C12P 7/56 (2006.01); C12N 1/20 (2006.01); B01J 19/10 (2006.01)(21)(22) Application: **2017142260, 05.12.2017**(24) Effective date for property rights:
05.12.2017Registration date:
04.09.2018

Priority:

(22) Date of filing: **05.12.2017**(45) Date of publication: **04.09.2018** Bull. № 25

Mail address:

**107113, Moskva, ul. Rusakovskaya, 25, kv. 147,
Akopyan V.B.**

(72) Inventor(s):

**Achildiev Georgij Evgenevich (RU),
Akopyan Valentin Babkenovich (RU),
Bondarenko Galina Alekseevna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Obshchestvo s ogranichennoj otvetstvennostyu
OOO "Inzhiniringovyy tsentr "Zelenaya khimiya"
(RU)**(54) **METHOD OF PRODUCING LACTIC ACID**

(57) Abstract:

FIELD: biochemistry.

SUBSTANCE: invention relates to biochemistry. Method for the production of lactic acid from sugar-containing products and waste products thereof is proposed. Method includes performing fermentation of sugar-containing products and waste products thereof with lactic acid bacteria. During fermentation, the resulting lactic acid is converted to calcium lactate by

adding calcium hydroxide to the culture medium, and after fermentation, the culture medium is carbonated with carbon dioxide using ultrasound radiated by the hydroacoustic radiator to reconstitute lactic acid.

EFFECT: invention provides a reduction in the processing time of the culture fluid.

1 cl, 2 ex

C 1
2 6 6 5 8 4 2
R U

R U
2 6 6 5 8 4 2
C 1

Изобретение относят к биотехнологии, а именно к способам получения молочной кислоты микробиологическим синтезом, и, в частности, может быть использовано для интенсификации процесса получения молочной кислоты, нашедшей широкое применение в сельскохозяйственном кормопроизводстве, в пищевой, фармацевтической, легкой промышленности при выделке кож, а также в текстильной, промышленности, при производстве растворителей, пластификаторов, лаков, олиф, моющих средств, биоразлагаемых полимеров и т.д.

Целью настоящего изобретения является разработка нового способа получения молочной кислоты.

Поставленную цель достигают сбраживанием сахаросодержащего субстрата молочнокислыми бактериями, предотвращением подавления метаболизма молочнокислых бактерий ими же продуцируемой молочной кислотой за счет реакции образующейся молочной кислоты с добавляемым в среду углекислым кальцием, и характеризуется тем, что, восстановление молочной кислоты из лактата кальция, обеспечивается угольной кислотой, образующейся при сатурации культуральной жидкости диоксидом углерода в поле акустодинамического излучателя.

Из предшествующего уровня техники известны многочисленные способы получения молочной кислоты, что свидетельствует о тех или иных недостатках каждого из них, об отсутствии единого оптимизированного метода ее производства, потребности в новых решениях, максимально соответствующих требованиям конкретных разрабатываемых и используемых технологий.

Известны способы синтетического получения молочной кислоты, например, из ацетальдегида окиси углерода и воды под высоким давлением и в присутствии катализаторов. Например, (Bhattacharyya S.K., Palia S.K., Das A.R. Catalytic synthesis of lactic acid from acetaldehyde, carbon monoxide and water. Ind. Chem. Prod. Res Develop/ 1970, 9,1, p. 92-97), однако подобные методы выгодно использовать лишь в регионах с неразвитым сельскохозяйственным производством.

Известен способ получения молочной кислоты, включающий сбраживание сахаросодержащего раствора, содержащего смесь сахара-сырца, рафинадной патоки, свекловичной мелассы, а также нестерильных солодовых ростков молочнокислыми бактериями, и нейтрализацию образующейся молочной кислоты мелом (Смирнов В.А. Пищевые кислоты., М. Легкая и пищевая промышленность, 1983, 264 с.).

Известен способ получения молочной кислоты, включающий сбраживание сахаросодержащего субстрата, содержащего нестерильные солодовые ростки молочнокислыми бактериями с добавлением препарата, содержащего протеолитические, амилолитические, пектолитические и целлюлозолитические ферменты (Голубчина Р.Н., Никулина И.Д., Евелева В.В., Кремнева Н.П., Новотельнова Н.Я. Способ получения молочной кислоты. АС SU №1113409, 1882 г.).

Известен способ получения молочной кислоты, включающий сбраживание сахаросодержащего субстрата, содержащего обработанные раствором молочной кислоты солодовые ростки, молочнокислыми бактериями и нейтрализацию образующейся молочной кислоты мелом (Евелева В.В., Гаджиев Э.А., Филимонова И.Н., Черпалова Т.М. Способ получения молочной кислоты. Патент РФ 2149188, 2000).

К недостаткам вышеперечисленной группы способов можно отнести необходимость поддержания заданного уровня титруемой кислотности, относительно низкий выход конечного продукта, не биодеградируемые отходы производства.

Известен способ получения молочной кислоты на различном углеводсодержащем сырье (Смирнов В.А. Пищевые кислоты / М. Легкая и пищевая промышленность, 1983,

264 с.). Согласно этому способу молочную кислоту получают ферментацией источников, содержащих сбраживаемые сахара (сахар-сырец, рафинадная патока, свекловичная меласса), при помощи штаммов бактерий *Lactobacillus delbrueckii*.

Недостатком такого способа производства является относительно высокая стоимость субстратов и, как следствие, высокая себестоимость конечного продукта.

Известны способы получения молочной кислоты из сельскохозяйственных отходов (Галкина Г.В., Илларионова В.И., Горбатова Е.В. Возможность получения пищевых кислот из отходов крахмального сырья. Пищевая промышленность, Инф. Сб. АгроНИИТЭИПП, 1993, вып. 2, с. 18-20; Fengjie Cui. Production of lactic acid from fermentations using mixed bacterial cultures. Patent US 20150140624; Number of publishing WO 2013185344 A1, 2012) и кормового сырья (Joachim S., Wasserscheid P., Boesmann A., Tietz W. Production of lactic acid by way of fermentation and extraction of amines. Patent DE, Application Number 10 2007 045 701.6, 2007). Недостатком упомянутых способов является необходимость реализации стадии предварительного гидролиза растительного сырья.

Известен способ получения молочной кислоты путем ферментации инулинсодержащего сырья микроорганизмом, вызывающим молочнокислородное брожение (Шамцян М.М.; Яковлев В.И.; Солодовник К.А. Способ получения L(+) молочной кислоты. Патент РФ №2195494, 1999 г.). Недостатком способа можно считать относительно малотоннажное сырье для производства молочной кислоты.

Известен способ получения молочной кислоты сбраживанием пастеризованной молочной сыворотки с последующим удалением белков из конечного продукта (Фостер Э.М., Нельсон Ф.Ю., и др. Микробиология молока. М. Пищепромиздат. 1963. с. 521-524.). Недостатком способа является использование дефицитного сырья и сложность технологического процесса.

Известен способ получения молочной кислоты путем выращивания продуцента - молочнокислых бактерий, способных к росту при повышенной температуре - в оптимальных для его развития условиях с последующим выделением целевого продукта из ферментационной среды, отличающийся тем, что в качестве продуцента используют кокковую форму молочнокислых бактерий, а молочную кислоту их культуральной жидкости выделяют, добавляя в нее эквивалентное лактату кальция количество серной кислоты (H_2SO_4). При этом лактат кальция переходит в молочную кислоту, гипс ($CaSO_4$) выпадает в осадок, после чего отделение осветление молочной кислоты от гипса осуществляют фильтрованием (Исакова Д.М. Способ получения молочной кислоты. Патент РФ №2175014, 2001 г.).

Известен способ получения молочной кислоты из целлюлозного компонента городских твердых отходов после их сортировки и освобождения от тяжелых металлов (Лайтсей Д.Р., Чиффелло Р. Способ получения молочной кислоты. Патент РФ №2177036, 1995 г.).

Известен способ получения молочной, муравьиной и уксусной кислот из хлопковой целлюлозы путем щелочной предварительной обработки и гидротермальной дегградации (Peng Gao, Gang Li, Fang Yang, Xiao-Na Lv, Hongxian Fan, Lan Meng, Xue-Qing Yu Preparation of lactic acid, formic acid and acetic acid from cotton cellulose by the alkaline pre-treatment and hydrothermal degradation. Industrial Crops and Products. 2013, 48, P. 61-67). Недостаток метода - необходимость разделить молочную, муравьиную и уксусную кислоты в конечном продукте.

Известен способ получения молочной кислоты и/или лактата (прототип) из концентрированного свекольного сока, подвергнутого ферментации с участием микроорганизмов, продуцирующих молочную кислоту, без добавления извести до рН

11,2 в которую впоследствии вводят известь и двуокись углерода, а также удаляют карбонатный осадок (Visser D., Breugel J. Van, De Bruijn M. J., A'Campo P. Lactic acid production from concentrated raw sugar beet juice. Patent US 8211675 B2 2007).

Последний этап представляет собой наиболее затратную по времени стадию технологической цепочки.

Известна также способность ультразвука, в частности, ультразвука излучаемого гидроакустическим излучателем, ускорять физико-химические процессы (Акопян В.Б., Ершов Ю.А. Основы взаимодействия ультразвука с биологическими объектами. М.: Из-во МГТУ им. Н.Э. Баумана, 2006. 223 с., Акопян В.Б., М.В. Воробьева Г.И., Заикина А.И., и др. Способ предобработки свекольного жома. Патент РФ №2629223, 2017 г.)

Для технологических целей чаще всего используют пластинчатые гидродинамические излучатели, широко применяемые для интенсификации процессов эмульгирования взаимно нерастворимых жидкостей, диспергирования твердых частиц в жидкой среде, ускорения кристаллизации в растворах и расплавах, очистки и санитарной обработки деталей и технологических узлов применяемых в пищевой промышленности машин и т.д. (Kwiatkowska B., Bennett J., Akunna J., Walker G.M., Bremner, D.H. Stimulation of bioprocesses by ultrasound. Biotechnology Advances. 2011, 29, 6, Pp. 768-780; Акопян В.Б., Ершов Ю.А. Основы взаимодействия ультразвука с биологическими объектами. М., Издательство Юрайт, 2016, 223 с.).

Целью настоящего изобретения является разработка эффективного, экологически щадящего способа получения молочной кислоты.

Поставленную цель достигают сбраживанием сахаросодержащего субстрата молочнокислыми бактериями, предотвращением подавления метаболизма молочнокислых бактерий ими же продуцируемой молочной кислотой за счет реакции образующейся молочной кислоты с добавляемым в среду гидроокисью кальция, и характеризуется тем, что, восстановление молочной кислоты из лактата кальция, обеспечивается угольной кислотой, образующейся при сатурации культуральной жидкости диоксидом углерода в поле акустодинамического излучателя.

Изобретение поясняется примерами, которые, однако, не носят ограничивающего характера.

Пример 1

Используют стандартный метод культивирования молочнокислых бактерий (Балпанов Д.С., Тен О.А., Есепбай Г.Е., Барбасова С.К. Технология получения закваски для силосования грубостебельчатых кормов с использованием молочнокислых и пропионовокислых культур. Биотехнология. Теория и практика. 2014. №1. с. 79-84; Сушкова В.И., Воробьева Г.И. Безотходная конверсия растительного сырья в биологически активные вещества. Киров, 2007, 204 С), например, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, оптимальное значение рН для культивирования которых лежит в интервале 6,8÷7,0, оптимальная температура развития составляет 28-32°C, а среда для культивирования и хранения представляет собой модифицированную агаризованную среду Чапека с дрожжевым экстрактом (6 г/л).

В процессе культивирования среда постепенно закисляется за счет выделения молочной и уксусной кислот, в качестве метаболитов, и рост клеток ингибируется. Для предотвращения ингибирования роста и развития молочнокислых бактерий, образующуюся молочную кислоту переводят в лактат кальция, добавляя в процессе ферментации гидроокись кальция в культуральную среду. Для восстановления молочной кислоты культуральную среду после окончания ферментации сатурируют двуокисью углерода, в результате чего в водной среде образуется угольная кислота, реакция

которой с лактатом кальция приводит к образованию молочной кислоты и карбонатного осадка. Молочную кислоту (при необходимости) концентрируют, а карбонатный осадок, отделенный фильтрованием, отправляют на прокаливание, в результате которого образуется мел и гидроокись углерода, возвращаемые в процесс. Связывание молочной кислоты в культуральной среде, позволяет поддерживать рН на оптимальном уровне, продлить фазу активного роста клеток молочнокислых бактерий и существенно увеличить концентрацию клеток в культуральной жидкости к концу культивирования, длительность которого для *Lactococcus lactis* составила 22 часа.

Пример 2

Используют стандартный метод культивирования молочнокислых бактерий *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, оптимальное значение рН для культивирования которых лежит в интервале 6,8÷7,0, оптимальная температура развития составляет 28-32°C, а среда для культивирования и хранения представляет собой модифицированную агаризованную среду Чапека с дрожжевым экстрактом (6 г/л).

Для предотвращения ингибирования роста и развития молочнокислых бактерий, образующуюся молочную кислоту переводят в лактат кальция, добавляя в процессе ферментации гидроокись кальция в культуральную среду. После окончания ферментации, культуральную среду для восстановления молочной кислоты сатурируют двуокисью углерода с использованием, для интенсификации процесса, ультразвука излучаемого гидроакустическим излучателем в широком диапазоне частот и обеспечивающим плотность акустической энергии в обрабатываемой среде 0,1-4 Вт/см³, в результате чего в водной среде возникают энергичные микропотоки, снижающие диффузионные ограничения и, как следствие, ускоряющие образование угольной кислоты и ее реакцию с лактатом кальция, приводящую к ускоренному образованию молочной кислоты и карбонатного осадка. Молочную кислоту (при необходимости) концентрируют, а карбонатный осадок, отделенный фильтрованием, отправляют на прокаливание, в результате которого образуется гидроокись кальция и двуокись углерода, возвращаемые в процесс. Эффективное удаление из культуральной среды молочной кислоты, позволяет постоянно поддерживать рН на оптимальном уровне, соответствующем фазе активного роста клеток молочнокислых бактерий и существенно увеличивать концентрацию клеток в культуральной жидкости к концу культивирования, длительность которого для *Lactococcus lactis* благодаря использованию ультразвуковой интенсификации процесса, составила 14 часов.

Таким образом, реализация метода в полной мере позволяет использовать в частности отходы сахароперерабатывающей и зерновой промышленности в качестве сырья для получения весьма востребованной молочной кислоты, избежать образования в виде гипса, обычно отправляемого на свалку, снизить давление на окружающую среду.

Как следует из вышеприведенных примеров, совокупность отличительных признаков описываемого изобретения обеспечивает достижение указанного результата.

Неожиданным результатом изобретения является весьма существенное (примерно в 6 раз) сокращение времени обработки культуральной жидкости в ультразвуковом поле.

В результате проведенного анализа уровня техники получения молочной кислоты, источник, характеризующийся признаками, тождественными всем существенным признакам заявленного способа, не обнаружен, следовательно, заявленное изобретение соответствует условию "новизна".

Дополнительный поиск известных решений показал, что заявленное изобретение не вытекает для специалиста явным образом из известного уровня техники, поскольку

предложенный способ обладает свойствами, обеспечивающими использование отходов зерновой и сахароперерабатывающей промышленности в качестве сырья для получения весьма востребованной молочной кислоты, предупреждение образования обычно отправляемого на свалку гипса, возможность повторного, многократного использования карбонатного осадка, разлагаемого при прокаливании на двуокись кальция и двуокись углерода, в снижение давления на окружающую среду.

Следовательно, заявленное изобретение соответствует условию «изобретательский уровень».

Для заявленного способа в том виде, как он охарактеризован в изложенной формуле изобретения, нет препятствий для его реализации с получением молочной кислоты, а также других, синтезируемых микроорганизмами карбоновых кислот. Следовательно, заявленное изобретение соответствует условию "промышленная применимость".

Предлагаемый способ создает необходимое разнообразие, обеспечивая возможность оптимального выбора средств для решения конкретных задач направленных на выделения целевого продукта из жидких сред продуктов биологического и химического синтеза.

(57) Формула изобретения

Способ получения молочной кислоты из сахаросодержащих продуктов и отходов их переработки, включающий осуществление ферментации сахаросодержащих продуктов и отходов их переработки молочнокислыми бактериями, отличающийся тем, что при ферментации образующуюся молочную кислоту переводят в лактат кальция путем добавления гидроокиси кальция в культуральную среду, причем после окончания ферментации для восстановления молочной кислоты культуральную среду сатурируют двуокисью углерода с использованием излучаемого гидроакустическим излучателем ультразвука, обеспечивающим в среде плотность акустической энергии 0,1-4 Вт/см³.

30

35

40

45