



(51) МПК

C12P 1/00 (2006.01)*C08B 37/08* (2006.01)*A23K 1/00* (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: 2006127109/13, 26.07.2006

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
26.07.2006

(43) Дата публикации заявки: 10.02.2008

(45) Опубликовано: 27.01.2009 Бюл. № 3

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: RU 2139887 C1, 20.10.1999. SU 1517904 A1, 30.10.1989. RU 2067588 C1, 10.10.1996. DE 19652356, 26.02.1998. US 4195175, 25.03.1980. ВЕРОТЧЕНКО М.А. и др. Биопереработка свиного навоза - основа получения хитина и хитозана, *Аграрная наука*, 2000, №5, с.57-59. ТЕЛИШЕВСКАЯ Л.Я. Белковые гидролизаты. - М., 2000, с.14-87.

Адрес для переписки:

101000, Москва, Лучников пер., 4, стр.2, офис
36, Н.В.Поплевиной

(72) Автор(ы):

Аксенов Александр Васильевич (RU),
Буданов Андрей Гилич (RU),
Козинцев Андрей Львович (RU),
Пряхин Игорь Петрович (RU),
Шинкарев Сергей Михайлович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Общество с ограниченной ответственностью
"МУСКА" (RU)

(54) СПОСОБ ПЕРЕРАБОТКИ ЛИЧИНОК СИНАНТРОПНОЙ МУХИ

(57) Реферат:

Изобретение относится к биотехнологии. Способ включает тепловую обработку личинок, отделенных от субстрата по окончании их культивирования, в течение 2-15 минут при температуре 75-100°C. После тепловой обработки личинки раздавливают, отделяют хитиносодержащую фракцию от гемолимфы, а затем отмытую и измельченную хитиносодержащую фракцию подвергают ферментативному гидролизу при температуре 35-46°C, pH 6,5-8,5 до достижения содержания аминного азота не ниже 0,8 Г/%. Далее отделенный

хитиносодержащий осадок подвергают щелочному гидролизу при постоянном перемешивании в течение 60-90 минут и температуре 55-65°C. Отделенный хитиносодержащий осадок подвергают деминерализации 1,5-3,0 процентным раствором соляной или азотной кислоты в течение 30-40 минут и температуре 60-70°C. После этого содержащий хитин осадок промывают водой до pH 6,5-7,5 и высушивают. Изобретение позволяет повысить биологическую ценность целевых продуктов при одновременном увеличении их числа и упрощении технической реализации способа. 3 з.п. ф-лы.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,
PATENTS AND TRADEMARKS

(51) Int. Cl.

C12P 1/00 (2006.01)*C08B 37/08* (2006.01)*A23K 1/00* (2006.01)(12) **ABSTRACT OF INVENTION**(21), (22) Application: **2006127109/13, 26.07.2006**(24) Effective date for property rights: **26.07.2006**(43) Application published: **10.02.2008**(45) Date of publication: **27.01.2009 Bull. 3**

Mail address:

**101000, Moskva, Luchnikov per., 4, str.2,
ofis 36, N.V.Poplevinoj**

(72) Inventor(s):

**Aksenov Aleksandr Vasil'evich (RU),
Budanov Andrej Gilich (RU),
Kozintsev Andrej L'vovich (RU),
Prjakhin Igor' Petrovich (RU),
Shinkarev Sergej Mikhajlovich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Obshchestvo s ogranichennoj otvetstvenost'ju
"MUSKA" (RU)**

(54) **METHOD OF PROCESSING SYNANTHROPIC FLY LARVA**

(57) Abstract:

FIELD: chemistry, biochemistry.

SUBSTANCE: invention relates to biotechnology.

The proposed method comprises thermal processing of larva, separated from a substratum upon termination of their cultivation, for 2 to 15 min at 75 to 100°C. Thermal processing over, larvae are crushed, chitine-containing fraction is separated from hemolymph. Now, the chitine-containing precipitate as-washed and crushed is subjected to enzymic hydrolysis at temperature 35 to 46°C with pH of 6.5 to 8.5 till achieving amine nitrogen content not below 0.8 G/%. Then, the

separated chitine-containing precipitate is subjected to alkaline hydrolysis at continuous mixing for 60 to 90 min at 55 to 65°C. Finally, the aforesaid chitine-containing precipitate is subjected to demineralisation by 1.5 to 3.0 percent solution of hydrochloric or nitric acid for 30 to 40 min at 60 to 70°C. After that, the precipitate containing chitine is rinsed with water till pH of 6.5 to 7.5 and dried.

EFFECT: increase in biological value of target products with simultaneous increase in their number and simplification of process method.

4 cl, 1 ex

Изобретение относится к биотехнологии, а более конкретно к безотходной комплексной переработке личинок синантропной мухи, культивируемых на органических отходах свиноводческих и птицеводческих хозяйств.

Из уровня техники известен способ переработки личинок синантропной мухи, включающий культивацию личинок синантропной мухи на органических отходах, отделение личинок от субстрата по окончании их культивирования, измельчение сырых личинок до пастообразной массы, которую сначала затаривают в герметичные металлические емкости, а потом стерилизуют, ступенчато повышая температуру нагрева до 150°C (см. авторское свидетельство SU - A1 - №1517904, 1989).

Недостаток этого способа заключается в том, что он не обеспечивает глубокой переработки биомассы личинок, что, с одной стороны, не обеспечивает получения целого ряда весьма ценных продуктов (хитина, хитозана, белковых гидролизатов), имеющих широкий спектр областей применения, а, с другой стороны, приводит к снижению качества получаемой этим способом кормовой добавки, вследствие наличия в ней компонентов, которые в нативном виде не полностью усваиваются организмом животного.

Известен также способ переработки личинок синантропной мухи, который взят в качестве прототипа и согласно которому личинки синантропной мухи, отделенные от субстрата по окончании их культивирования на свином навозе или птичьим помете, замораживают, затем с помощью пресс-приспособления личинки раздавливают и отделяют хитиносодержащую фракцию от первого целевого продукта - гемолимфы (жидкой белковой массы), после чего отмытую водой хитиносодержащую фракцию подвергают сначала деминерализации 1,5-5,0 процентным раствором сильной неорганической кислоты в соотношении твердой и жидкой фаз, равном 1:(3-4) по массе, при постоянном перемешивании в течение 1,5-2,0 часов и температуре 18-30°C, а затем после отмывки хитиносодержащего осадка водой хитиносодержащий осадок подвергают щелочной очистке (щелочному гидролизу) 2,0-5,0 процентным раствором щелочи в соотношении твердой и жидкой фаз, равном 1:(3-5) по массе, при постоянном перемешивании в течение 1,5-3,0 часов и температуре 90-100°C, при этом обеспечиваются условия, исключающие контакт реакционной среды с воздухом. Затем отделяют щелочной гидролизат (являющийся следующим целевым продуктом), а осадок промывают последовательно водой, этиловым спиртом и хлороформом, в результате чего получают третий целевой продукт - хитин (см. патент RU - A1 - №2139887, 1999). Основной недостаток прототипа заключается в том, что одностадийный щелочной гидролиз, проводимый к тому же при достаточно жестких режимах, не обеспечивает эффективной очистки хитина от белков, приводит к деструкции хитина, к снижению биологической ценности белка, полученного щелочным гидролизом, а также к необходимости использования органических растворителей при отмывке от полученного хитина жирорастворимых фракций. При этом, как было установлено, использование при получении хитина органических растворителей, в частности хлороформа, не позволяет использовать хитин в пищевых целях, в частности, в биологически активных добавках. Кроме того, осуществление известного способа переработки личинок синантропной мухи сопряжено с необходимостью использования холодильника, а также специальных средств и защитных сред, позволяющих исключить контакт реакционных сред с воздухом. Усложнение же технической реализации способа неизбежно ведет к увеличению стоимости целевых продуктов.

Настоящее изобретение направлено на решение технической задачи по обеспечению повышения биологической ценности целевых продуктов, при одновременном увеличении числа получаемых целевых продуктов и упрощении технической реализации способа переработки личинок синантропной мухи. Достижимый при этом технический результат заключается в обеспечении сохранения в наибольшей степени нативных свойств хитина, кормового белка, получаемого из щелочного гидролизата, в обеспечении более эффективной очистки хитина от белков за счет получения дополнительного продукта - ферментативного белкового гидролизата, при одновременном упрощении технической реализации способа переработки личинок синантропной мухи.

Поставленная задача решена тем, что в способе переработки личинок синантропной мухи, включающем раздавливание личинок и отделение хитиносодержащей фракции от гемолимфы, деминерализацию раствором сильной неорганической кислоты и щелочную очистку хитиносодержащего осадка с отделением щелочного гидролизата, согласно

5 изобретению перед отделением хитиносодержащей фракции от гемолимфы личинки, отделенные от субстрата по окончании их культивирования, подвергают тепловой обработке в течение 2-15 минут при температуре 75-100°C, а после раздавливания прошедших тепловую обработку личинок отделенную, отмытую водой и измельченную хитиносодержащую фракцию подвергают ферментативному гидролизу, который проводят

10 экстрактом поджелудочной железы с протеолитической активностью не менее 0,3 ПЕ/Г, взятым в соотношении 0,9-1,1 литра на килограмм хитиносодержащей фракции при pH 6,5-8,5 и температуре 35-48°C до достижения содержания аминного азота не ниже 0,8 Г%, после этого ферментативный гидролиз останавливают, отделяют раствор белкового гидролизата от хитиносодержащего осадка, который подвергают щелочной очистке 1,5-3,0

15 процентным раствором щелочи в соотношении твердой и жидкой раз, равном 1:(3-4) по массе, при непрерывном перемешивании в течение 60-90 минут и температуре 55-65°C, после отделения хитиносодержащего осадка от щелочного гидролизата он, после отмытки водой, подвергается деминерализации 1,5-3,0 процентным раствором соляной или азотной кислоты в соотношении твердой и жидкой фаз, равном 1:(3-4) по массе, при непрерывном

20 перемешивании в течение 30-40 минут и температуре 60-70°C, после чего содержащий хитин осадок промывают до pH 6,5-7,5, высушивают или направляют на получение хитозана.

Кроме того, поставленная задача решена тем, что:

- 25 - полученный раствор ферментативного белкового гидролизата осветляют и высушивают;
 - полученный раствор щелочного гидролизата нейтрализуют до pH 6,5-7,5 и высушивают;
 - нейтрализацию щелочного гидролизата осуществляют путем смешения его с
- 30 полученной при деминерализации жидкой фракцией.

Преимущество предложенного способа переработки личинок синантропной мухи перед прототипом заключается, во-первых, в том, что проведение вместо операции замораживания личинок, отделенных от субстрата по окончании их культивации, операции по их тепловой обработке обеспечивает не только пастеризацию биомассы личинок, но и подавление тирозинадной реакции, что повышает качество целевых продуктов при

35 одновременном упрощении технической реализации способа переработки личинок синантропной мухи. Во-вторых, предложенное проведение в определенной последовательности двухстадийного гидролиза позволяет не только осуществить более эффективную очистку хитина от белка и дополнительно получить ферментативный белковый гидролизат, который по своей биологической ценности превосходит щелочной

40 гидролизат, но, с одной стороны, позволяет существенно смягчить режимы проведения щелочного гидролиза (что обеспечивает в большей степени сохранение нативных свойств хитина и повышает биологическую ценность кормового белка, выделяемого путем щелочного гидролиза), а с другой стороны, позволяет исключить необходимость в использовании для промывки хитина органических растворителей, что расширяет область

45 его использования.

Способ переработки личинок синантропной мухи осуществляют следующим образом. Культивацию личинок синантропной мухи осуществляют на органических отходах, предпочтительно на свином навозе или птичьем помете, при температуре 20-52°C в

50 течение 5-7 дней после внесения на свиной навоз или птичий помет влажностью 70-85% яиц синантропной мухи из расчета, например, одного грамма яиц на один килограмм навоза или помета. По окончании культивирования личинок синантропной мухи (о котором судят по снижению температуры субстрата) личинок отделяют от переработанных органических отходов, например, с помощью сетчатого сепаратора.

Личинки синантропной мухи, отделенные от субстрата по окончании их культивирования на свином навозе или птичьим помете, подвергают в течение 2-15 мин тепловой обработке в воде с температурой 75-100°C, что, с одной стороны, обеспечивает их пастеризацию, а с другой стороны, обеспечивает ингибирование комплекса ферментов, участвующих в реакции меланинообразования. Таким образом, повышается качество целевых продуктов за счет подавления тирозинадной реакции. Длительность тепловой обработки личинок в воде определяется в первую очередь температурой воды, а именно: чем выше температура воды, тем меньше время проведения тепловой обработки личинок.

Затем личинки, прошедшие тепловую обработку, раздавливают и отделяют хитиносодержащую фракцию от гемолимфы, являющейся первым целевым продуктом, например, с помощью пресс-сепаратора с диаметром отверстий барабана предпочтительно 0,5-0,75 мм. Выделенную гемолимфу (жидкую белковую фракцию биомассы личинок) используют в нативном или высушенном виде (кормовой муки) на корм скоту, например, в составе комбикормов или в виде кормовой добавки для составления кормосмесей.

Хитиносодержащую фракцию отмывают водой, например водопроводной, измельчают на коллоидной мельнице, а затем подвергают ферментативному гидролизу, который проводят экстрактом поджелудочной железы с протеолитической активностью не менее 0,3 ПЕ/Г на грамм сухого вещества, например, крупного рогатого скота или свиней, взятого в соотношении 0,9-1,1 литра на килограмм хитиносодержащей фракции при нейтральных или слабощелочных условиях (рН 6,5-8,5) и температуре 35-48°C до достижения содержания аминного азота не ниже 0,8 Г%. После достижения требуемого содержания аминного азота проводят кислотную инактивацию ферментов, содержащихся в используемом экстракте поджелудочной железы, путем добавления 10% раствора соляной кислоты до значения рН 4,5-5,2. В результате ферментативный гидролиз останавливается. Полученный раствор ферментативного белкового гидролизата отделяют от хитиносодержащего осадка, осветляют на фильтре или центрифуге, а затем очищенный ферментативный белковый гидролизат высушивают. Полученный порошок содержит не менее 90 вес.% белка и может быть использован для приготовления микробиологических питательных сред, диетического питания, стартерных комбикормов и т.п.

Отмытый хитиносодержащий осадок подвергают щелочной очистке (щелочному гидролизу), которую осуществляют 1,5-3,0 процентным раствором щелочи в соотношении твердой и жидкой фаз, равном 1:(3-4) по массе, при температуре 55-65°C в течение 60-90 минут и при постоянном перемешивании. Полученный раствор щелочного гидролизата отделяют от хитиносодержащего осадка, нейтрализуют, например, соляной кислотой до рН 6,5-7,5 и высушивают. Щелочной гидролизат может использоваться на корм скоту в жидком и сухом виде.

Депротеинизированный хитиносодержащий осадок двукратно промывают водой и подвергают деминерализации 1,5-3,0 процентным раствором соляной или азотной кислоты в соотношении твердой и жидкой фаз, равном 1:(3-4) по массе, при непрерывном перемешивании в течение 30-40 минут и температуре 60-70°C. Отделяют жидкую фракцию, которую в предпочтительном варианте осуществления способа смешивают с щелочным гидролизатом, как уже отмечалось выше, до рН 6,5-7,5, а содержащий хитин осадок промывают водой до нейтральной среды (рН 6,5-7,5), высушивают или направляют на получение хитозана путем его деацетилирования.

В дальнейшем изобретение поясняется конкретным примером. На 10 кг свиного навоза вносят 10 г яиц синантропной мухи. Культивируют личинки синантропной мухи в течение пяти дней при температуре 25°C и влажности навоза 70-72%. Затем личинки отделяют от субстрата с помощью сетки с размером ячеек 2x2 мм и подвергают тепловой обработке при температуре 80°C в течение 10 мин. Прошедшие тепловую обработку личинки раздавливают и отделяют гемолимфу от хитиносодержащей фракции. При этом получают 300 грамм хитиносодержащей фракции, которую отмывают водой, измельчают на коллоидной мельнице и подвергают ферментативному гидролизу. Для этого

хитиносодержащую фракцию помещают в ферментер, доводят объем водой до одного литра, подтитровывают рН до 8,0, нагревают до 45°C и приливают 300 мл экстракта поджелудочной железы крупного рогатого скота. Гидролиз ведут при постоянной температуре, контролируя содержание аминного азота. Через 12 часов, когда значение аминного азота достигло значения 0,87 Г/%, гидролиз останавливают добавлением 10 процентного раствора соляной кислоты до значения рН 4,7. Надосадочную жидкость отделяют, осветляют на нутч-филт্রে и высушивают на распылительной сушилке. Полученный сухой порошок используют для приготовления питательных сред при культивировании микроорганизмов. Полученный хитиносодержащий осадок заливают 500 мл 3% раствора щелочи, нагревают до 60°C; и выдерживают при постоянном перемешивании 90 мин. Затем надосадок отделяют, нейтрализуют соляной кислотой до рН 6,5 и высушивают. Оставшуюся массу двукратно промывают водой, заливают 500 мл 3% раствора соляной кислоты, нагревают до 60°C и при постоянном перемешивании выдерживают 30 мин. После чего содержимое выгружают на фильтр и отделяют жидкую фракцию. Полученный хитин промывают водой до рН 7,0 и высушивают. В результате получают 32 грамма хитина, который соответствует техническим требованиям ТУ 15-02538-89.

Изобретение может быть использовано на производственных объектах, обеспечивающих полную утилизацию твердых органических отходов жизнедеятельности некоторых видов сельскохозяйственных животных и птицы.

Формула изобретения

1. Способ переработки личинок синантропной мухи, включающий раздавливание личинок и отделение хитиносодержащей фракции от гемолимфы, деминерализацию раствором сильной неорганической кислоты и щелочную очистку хитиносодержащего осадка с отделением щелочного гидролизата, отличающийся тем, что перед отделением хитиносодержащей фракции от гемолимфы личинки, отделенные от субстрата по окончании их культивирования, подвергают тепловой обработке в течение 2-15 мин при температуре 75-100°C, а после раздавливания прошедших тепловую обработку личинок отделенную, отмытую водой и измельченную хитиносодержащую фракцию подвергают ферментативному гидролизу, который проводят экстрактом поджелудочной железы с протеолитической активностью не менее 0,3 ПЕ/Г, взятым в соотношении 0,9-1,1 л на килограмм хитиносодержащей фракции при рН 6,5-8,5 и температуре 35-48°C до достижения содержания аминного азота не ниже 0,8 Г/%, после этого ферментативный гидролиз останавливают, отделяют раствор ферментативного белкового гидролизата от хитиносодержащего осадка, который подвергают щелочной очистке 1,5-3,0%-ным раствором щелочи в соотношении твердой и жидкой фаз, равном 1:(3-4) по массе, при непрерывном перемешивании в течение 60-90 мин и температуре 55-65°C, после отделения хитиносодержащего осадка от щелочного гидролизата хитиносодержащий осадок после отмытки водой подвергается деминерализации 1,5-3,0%-ным раствором соляной или азотной кислоты в соотношении твердой и жидкой фаз, равном 1:(3-4) по массе, при непрерывном перемешивании в течение 30-40 мин и температуре 60-70°C, после чего содержащий хитин осадок промывают до рН 6,5-7,5, высушивают или направляют на получение хитозана.

2. Способ по п.1, отличающийся тем, что полученный раствор ферментативного белкового гидролизата осветляют и высушивают.

3. Способ по п.1, отличающийся тем, что полученный раствор щелочного гидролизата нейтрализуют до рН 6,5-7,5 и высушивают.

4. Способ по п.3, отличающийся тем, что нейтрализацию щелочного гидролизата осуществляют путем смешения его с полученной при деминерализации жидкой фракцией.