



УКРАЇНА

(19) **UA**
(51) МПК(11) **112166**(13) **C2****C12P 7/64** (2006.01)**C12P 1/02** (2006.01)**C12R 1/73** (2006.01)**C12R 1/84** (2006.01)**C12R 1/88** (2006.01)ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД**

(21) Номер заявки: **а 2013 06353**
(22) Дата подання заявки: **14.10.2011**
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: **10.08.2016**
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: **MI2010A001951**
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: **22.10.2010**
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: **IT**
(41) Публікація відомостей про заявку: **10.09.2013, Бюл.№ 17**
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: **10.08.2016, Бюл.№ 15**
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: **РСТ/EP2011/068043, 14.10.2011**

(72) Винахідник(и):
**Францозі Джуліана (IT),
Піцца Франческа (IT),
Куккетті Даніела (IT),
Б'янкі Даніеле (IT),
Компаньо Кончетта Марія (IT),
Ґалафассі Сільвія (IT)**
(73) Власник(и):
**ЕНІ С.П.А.,
Piazzale E. Mattei, 1, I-00144 Roma, Italy (IT)**
(74) Представник:
Кукшина Тетяна Архипівна, реєстр. №88
(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:
**WO 2010069516 A2, 24.06.2010
KOOTSTRA A M J ET AL. Comparison of
dilute mineral and organic acid pretreatment
for enzymatic hydrolysis of wheat straw /
BIOCHEMICAL ENGINEERING JOURNAL,
ELSEVIER, AMSTERDAM, NL. - 1 October
2009. - vol. 46, №2. - P. 126-131
DAI CHUAN-CHAO ET AL. Biodiesel
generation from oleaginous yeast Rhodotorula
glutinis with xylose assimilating capacity /
AFRICAN JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY,
ACADEMIC PRESS, US. - 1 September 2007.
- vol. 6, no. 18. - P. 2130-2134
W0 2004015120 A1, 19.02.2004
RIVARD C J ET AL. Measurement of the
inhibitory potential and detoxification of
biomass pretreatment hydrolysate for ethanol
production / APPLIED BIOCHEMISTRY AND
BIOTECHNOLOGY, THE HUMANA PRESS,
INC, US. - 1 January 1996. - vol. 57-58. - P.
183-191**

(54) СПОСІБ ОТРИМАННЯ ЛІПІДІВ З БІОМАСИ**(57) Реферат:**

Винахід стосується способу отримання ліпідів з біомаси, що містить принаймні один полісахарид, який включає кислотний гідроліз вказаної біомаси для отримання твердої фази та водної фази, кислотний або ферментний гідроліз отриманої твердої фази з отриманням додаткової твердої фази та додаткової водної фази, ферментацію обох водних фаз культурами

UA 112166 C2

клітин жирових дріжджів, мікрофільтрацію отриманого ферментативного бульйону для виділення ліпідів.



Фіг. 1

Заявлений винахід стосується способу отримання ліпідів з біомаси, яка містить принаймні один полісахарид.

Більш докладно, заявлений винахід стосується способу отримання ліпідів з біомаси, яка містить принаймні один полісахарид, що полягає у кислотному гідролізі вказаної біомаси, що містить принаймні один полісахарид з отриманням твердої та водної фази та у наступному кислотному або ферментному гідролізі вказаної твердої фази з отриманням додаткової твердої та водної фази з наступною ферментацією отриманих в результаті вказаного гідролізу водних фаз у присутності принаймні одного виду жирових дріжджів з отриманням ферментативного бульйону, що містить біомасу клітин жирових дріжджів та наступною мікрофільтрацією принаймні частини вказаного ферментативного бульйону.

Отримані таким чином ліпіди можуть бути успішно застосовані у виробництві дизельного біопалива або "зеленого" дизельного палива, яке можна застосувати саме по собі або у складі суміші з іншими видами палива для моторних транспортних засобів. Взагалі кажучи, біомаса є будь-якою речовиною з органічною, рослинною або тваринною основою, що може бути призначеною для виробництва енергії, наприклад, в якості сировини для виробництва біопалив або компонентів, що можуть бути додані у ці біопалива. Тому, в якості альтернативи традиційним матеріалам викопного походження, застосованим у виробництві палива, біомаса може утворювати поновлюване джерело енергії. Особливо корисною для цієї мети є лігноцелюлозна біомаса.

Добре відомим також є виробництво цукрів з біомаси, зокрема з лігноцелюлозної біомаси.

Лігноцелюлозна біомаса є комплексною структурою, що містить три головних компонента: целюлозу, геміцелюлозу та лігнін. Їх відносні кількості змінюються відповідно до типу застосованої лігноцелюлозної біомаси. Наприклад, якщо брати рослини, то вказані кількості змінюються відповідно до видів та віку рослини.

Целюлоза є найголовнішим компонентом лігноцелюлозної біомаси та головним чином присутня у кількості у діапазоні 30 % - 60 % за вагою по відношенню до загальної ваги лігноцелюлозної біомаси. Целюлоза складається з молекул глюкози (від біля 500 до 10,000 одиниць), зв'язаних між собою β -1,4 глюкозидним зв'язком. Утворення водневих зв'язків між ланцюгами веде до утворення кристалічних доменів, що надають рослинним волокнам пружності та еластичності. У природі її можна бути знайти у чистому вигляді у однорічних рослинах, як-то бавовна та льон, тоді як у деревних рослинах вона завжди супроводжується наявністю геміцелюлози та лігніну.

Геміцелюлоза, що головним чином присутня у кількості у діапазоні 10 % - 40 % за вагою по відношенню до загальної ваги лігноцелюлозної біомаси, звичайно знаходиться у вигляді змішаного полімеру, який є відносно коротким (10-200 молекул), розгалуженим та складається з цукрів, що мають шість карбонових атомів (глюкоза, маноза, галактоза), а також з цукрів з п'ятьма карбовими атомами (ксилоза, арабіноза). Деякі важливі властивості рослинних волокон обумовлені саме наявністю геміцелюлози, з яких головним є сприяння всмоктуванню води при її наявності вказаними рослинними волокнами, що викликає їх набухання. Геміцелюлоза також має адгезивні властивості, тому має тенденцію до укріплення або до розвитку ороговілої консистенції, внаслідок чого вказані рослинні волокна стають жорсткими та більш повільно поглинають вологу.

Лігнін, що головним чином присутній у кількості у діапазоні 10 % - 30 % за вагою по відношенню до загальної ваги лігноцелюлозної біомаси має головну функцію, яка полягає у зв'язуванні та цементуванні різних рослинних волокон між собою, що надає рослинам більшої ущільненості та стійкості, а також забезпечує їх захист від комах, патогенних агентів, пошкоджень та ультрафіолетового світла. Головним чином його застосовують у якості палива, але у промисловості його також вживають у якості диспергатора, затверджувача та емульгатора для шаруватих пластиків, виробів з картону та гумових виробів. Також його можна піддати хімічній обробці для отримання ароматичних сполук, ваніліну, бузкового альдегіду та р-гідроксибензальдегідів, які можна застосувати у фармацевтичній хімії, косметичній або у харчовій промисловості.

Відомо, що для оптимізації перетворення лігноцелюлозної біомаси на продукти для застосування енергії, вказану лігноцелюлозну біомасу піддають попередній обробці для відокремлення лігніну та гідролізу целюлози та геміцелюлози до простих цукрів, як-то, наприклад, глюкози та ксилози. Вказані цукри можна застосувати у якості джерел вуглецю у процесах ферментації у присутності мікроорганізмів для отримання спиртів та/або ліпідів.

У патентній заявці US 2008/0102176, наприклад, описано спосіб екстракції рослинних жирів, що полягає у подрібненні матеріалу сировини, яка містить целюлозу для отримання частинок з діаметром 1-2 мм; у зануренні частинок у сірчану кислоту з концентрацією, що дорівнює 1 % -

2 % для підкислення вказаних частинок з метою покращення гідролізу целюлози та з регулюванням значення pH у 4.5 ± 0.5 ; у видаленні підкислених сірчаною кислотою частинок та у послідовному додаванні до цих частинок целюлози та жирових дріжджів з наступною їх ферментацією протягом 8-9 днів з температурою 25°C - 30°C та вологістю 85 % - 90 %; у додаванні аліфатичного вуглеводню у якості розчинника до продуктів ферментації для екстракції жирів, у отриманні екстракційної суміші та видаленні з неї підкислених частинок та у відокремленні жирів з розчинника шляхом дистиляції з отриманням неочищеної олії. Целюлазу переважно отримують з грибка *Trichoderma viride* та жировими дріжджами є *Rhodotorula glutinis*. Отримані жири після естерифікації можна перетворити на біодизельне паливо.

Dai et al. описали отримання біодизельного палива з жирових дріжджів у статті " Biodiesel generation from oleaginous yeast *Rhodotorula glutinis* with xylose assimilating capacity ", що була надрукована у "African Journal of Biotechnology" (2007), Vol. 6 (18), pages 2130-2134. У цій статті описано процес подрібнення лігноцелюлозної біомаси з її наступним кислотним гідролізом у присутності сірчаної кислоти. Отримані таким чином цукри застосовували у якості джерел вуглецю у процесах ферментації у присутності попередньо вибраного штаму *Rhodotorula glutinis*, також здатного вживати пентози, зокрема ксилози, з метою отримання олій, які потім екстрагували шляхом екстракції в апараті Сокслета та піддали переетерифікації для отримання біодизельного палива.

Однак, вищезгадані способи можуть мати різні недоліки.

Вихід цукрів, отриманих після обробки лігноцелюлозної біомаси з розведеною сірчаною кислотою (тобто шляхом кислотного гідролізу), зокрема, наприклад, глюкози звичайно є низьким (наприклад, менше ніж 50 %). Більш того, при застосуванні цукрів, отриманих в результаті вказаної обробки в якості джерел вуглецю у процесі ферментації у присутності жирових дріжджів не завжди можна отримати прийнятні кількості виходу ліпідів (наприклад, кількості виходу ліпідів, менші ніж 30 % за вагою, де вказаний вихід був обчислений у вигляді загальної кількості ліпідів, наявних у біомасі цих клітин жирових дріжджів (у сухому стані), отриманій після ферментації).

Крім того, для отримання доброго виходу цукрів після гідролізу та доброго виходу ліпідів після ферментації (наприклад, виходу ліпідів, що буде вищим або дорівнювати 40 %, де вказаний вихід був обчислений у вигляді загальної кількості ліпідів, наявних у біомасі цих клітин жирових дріжджів (у сухому стані), отриманій після ферментації), вказані процеси вимагають застосування великих концентрацій лігноцелюлозної біомаси на етапі гідролізу. Більш того, застосування великих концентрацій лігноцелюлозної біомаси, зокрема у випадку кислотного гідролізу лігноцелюлозної біомаси може привести до отримання великої кількості токсичних сполук, як-то, наприклад, фурфуролу, гідроксиметил-фурфуролу, фенолових сполук, що можуть діяти у якості інгібіторів зростання мікроорганізмів, яких звичайно застосовують у відповідних процесах ферментації цукрів та, отже, у виробництві ліпідів.

Нещодавно Заявник виявив, що виробництво ліпідів з біомаси, яка містить принаймні один полісахарид може бути успішно проведено завдяки застосуванню способу, що полягає у кислотному гідролізі вказаної біомаси, що містить принаймні один полісахарид, з отриманням твердої та водної фази та у наступному кислотному або ферментному гідролізі вказаної твердої фази з отриманням додаткової твердої та водної фази з наступною ферментацією отриманих в результаті вказаного гідролізу водних фаз у присутності принаймні одного виду жирових дріжджів з отриманням ферментативного бульйону, що містить біомасу цих клітин жирових дріжджів та наступною мікрофільтрацією принаймні частини вказаного ферментативного бульйону.

Шляхом застосування вказаного способу можуть бути отримані численні переваги, наприклад, він дозволяє отримати цукри, зокрема пентози після обробки біомаси шляхом кислотного гідролізу, в тому числі принаймні один полісахарид та гексози, отримані шляхом кислотної або ферментативної гідролізої обробки твердої фази, отриманої в результаті вказаної кислотної гідролізої обробки біомаси, що містить принаймні один полісахарид, який потім можна буде застосувати у якості джерела вуглецю у ферментаційному процесі отримання ліпідів у двох окремих фазах ферментації. Зокрема, пентози, отримані після кислотної гідролізої обробки біомаси, що містить принаймні один полісахарид можна застосувати для отримання доброго зростання жирової клітинної біомаси, у той час, як гексози, отримані після кислотної або ферментативної гідролізої обробки твердої фази, отриманої в результаті вказаної кислотної гідролізої обробки біомаси, що містить принаймні один полісахарид, можна застосувати для підвищення виходу ліпідів. Крім того, мікрофільтрація принаймні частини ферментативного бульйону дозволяє зберігати у пристрої для ферментації постійний обсяг вказаного ферментативного бульйону та підвищити концентрацію клітинної біомаси жирових

дріжджів у вказаному ферментативному бульйоні, навіть при завантаженні розведених розчинів цукрів, отриманих шляхом кислотного гідролізу біомаси, що містить принаймні один полісахарид та/або після кислотної або ферментативної гідролізої обробки твердої фази, отриманої в результаті вказаної кислотної гідролізої обробки біомаси, що містить принаймні один полісахарид.

Вказаний спосіб дозволяє отримати високий вихід ліпідів (наприклад, вихід ліпідів, що буде вищим ніж або дорівнювати 40 %, де вказаний вихід був обчислений у вигляді загальної кількості ліпідів, наявних у біомасі цих клітин жирових дріжджів (у сухому стані), отриманій після ферментації). Вказані ліпіди можуть бути успішно застосовані у виробництві дизельного біопалива або "зеленого" дизельного палива, яке можна застосувати саме по собі або у складі суміші з іншими видами палива для моторних транспортних засобів.

Предметом заявленого винаходу є спосіб отримання ліпідів з біомаси, яка містить принаймні один полісахарид, що полягає у:

- кислотному гідролізі вказаної біомаси, що містить принаймні один полісахарид, з отриманням першої суміші, що містить першу тверду фазу та першу водну фазу;

- завантаженні вказаної першої водної фази до пристрою для ферментації у присутності принаймні одного виду жирових дріжджів з отриманням першого ферментативного бульйону, що містить першу біомасу цих клітин жирових дріжджів;

- кислотному або ферментному гідролізі вказаної першої твердої фази з отриманням другої суміші, що містить другу тверду фазу та другу водну фазу;

- завантаженні вказаної другої водної фази до вказаного пристрою для ферментації у присутності вказаного першого ферментативного бульйону з отриманням другого ферментативного бульйону, що містить другу біомасу цих жирових клітин, що містить ліпіди;

- мікрофільтрації принаймні частини вказаного другого ферментативного бульйону з отриманням ретентату та пермеату;

- завантаженні вказаного ретентату до вказаних пристроїв для ферментації.

Для цілей даного опису та наступної Формули Винаходу, визначення числових значень також завжди охоплює крайні значення, якщо не вказано іншого.

У відповідності з бажаним втіленням заявленого винаходу, вказаний полісахарид може бути вибраний з групи, що охоплює целюлозу, геміцелюлозу або їх суміші. Особливо бажаними є целюлоза або суміші геміцелюлози та целюлози.

У відповідності з додатковим бажаним втіленням заявленого винаходу, вказана біомаса, що містить принаймні один полісахарид є лігноцелюлозною біомасою. Як було зазначено вище, лігноцелюлозна біомаса містить три компоненти: геміцелюлозу, целюлозу та лігнін.

Вказана лігноцелюлозна біомаса переважно є вибраною з:

- продуктів культур, що спеціально вирощують у якості джерел енергії (наприклад, міскантус, могар, звичайний очерет), в тому числі з відходів, залишків та уламків зазначених культур або від їх переробки;

- продуктів сільськогосподарського розведення, лісорозведення та лісівництва, що охоплюють дерева, рослини та залишки та відходи переробки сільськогосподарської продукції, лісорозведення та лісівництва;

- відходів агропродовольчої продукції, призначеної для харчування людини або зоотехніки;

- відходів паперової промисловості без хімічної обробки;

- продуктів відходів, що надходять з диференційованого збору твердих міських відходів (наприклад, міські відходи рослинного походження, папір).

У відповідності з бажаним втіленням заявленого винаходу, вказана біомаса, що містить принаймні один полісахарид перед застосуванням вказаного кислотного гідролізу може бути спочатку подрібнена. Вказана біомаса, що містить принаймні один полісахарид переважно може бути подрібнена до отримання частинок з діаметром у діапазоні 0.1-10 мм, більш бажано у діапазоні 0.5-4 мм та особливо з діаметром у діапазоні, що буде меншим, ніж 1 мм.

У відповідності з бажаним втіленням заявленого винаходу, вказаний кислотний гідроліз може бути проведено у присутності водного розчину принаймні однієї неорганічної кислоти.

У відповідності з бажаним втіленням заявленого винаходу, вказана біомаса, що містить принаймні один полісахарид або вказану першу тверду фазу може бути присутньою у реакційній суміші у кількості у діапазоні 5 % - 20 % за вагою, переважно 10 % -18 % за вагою відносно загальної ваги реакційної суміші.

Для цілей даного опису та наступної Формули Винаходу, під терміном "реакційна суміш" у випадку кислотного гідролізу мається на увазі така суміш, що містить вказану біомасу, яка містить принаймні один полісахарид або вказану першу тверду фазу та вказаний водний розчин вказаної принаймні однієї неорганічної кислоти.

Для цілей даного опису та наступної Формули Винаходу, під терміном "реакційна суміш" у випадку ферментативного гідролізу мається на увазі така суміш, що містить вказану першу тверду фазу та водний розчин принаймні одного ферменту.

У відповідності з бажаним втіленням заявленого винаходу, вказана неорганічна кислота може бути вибраною від сірчаної кислоти, азотної кислоти, соляної кислоти, фосфорної кислоти або їх сумішей. Бажаною є сірчана кислота.

У відповідності з бажаним втіленням заявленого винаходу, вказана неорганічна кислота є присутньою у вказаному водному розчині з концентрацією у діапазоні 0.1 % -2 % за вагою, переважно у діапазоні 0.3 % -1 % за вагою відносно загальної ваги водного розчину.

Вказана неорганічна кислота діє, як каталізатор кислотного гідролізу вказаної біомаси, що містить принаймні один полісахарид або вказану першу тверду фазу. Зокрема, коли біомаса, що містить принаймні один початковий полісахарид є лігноцелюлозною біомасою, то вказана неорганічна кислота специфічно діє у якості каталізатора кислотного гідролізу геміцелюлози.

У відповідності з бажаним втіленням заявленого винаходу, вказаний кислотний гідроліз може бути проведений при температурному діапазоні 140 °C - 270 °C, переважно при температурному діапазоні 170 °C - 250 °C.

У відповідності з бажаним втіленням заявленого винаходу вказаний кислотний гідроліз може бути проведений протягом часу у діапазоні 10 сек. - 30 хв., переважно 30 сек. - 20 хв.

Вказаний кислотний гідроліз може бути проведений у відомих у цій галузі реакторах, як-то, наприклад, автоклави або екструдери.

Вказаний ферментний гідроліз може бути проведений відповідно до описаних у цій галузі способів, наведених, наприклад, у патентах США US 5,628,830, US 5,916,780 та US 6,090,595, з застосуванням наявних у продажу ферментів, як-то, наприклад, Celluclast 1.5L (Novozymes), Econase CE (Rohm Enzymes), Spezyme (Genecor), Novozym 188 (Novozymes), застосованих або у суміші або по окремості.

Якщо вказану біомасу, що містить принаймні один полісахарид або вказану першу тверду фазу, піддають дії кислотного гідролізу, то вказана перша водна фаза та/або вказана друга водна фаза може бути оброблена принаймні одним адсорбентом з метою зменшення кількості побічних продуктів, як-то, наприклад, фурфуролу, гідроксиметил-фурфуролу та фенолових сполук, що можуть діяти у якості інгібіторів зростання жирових дріжджів, застосованих у наступній ферментації та необхідних для отримання ліпідів.

Відповідно до додаткового бажаного втілення заявленого винаходу, вказана перша водна фаза та/або вказана друга водна фаза може бути оброблена принаймні одним адсорбентом з отриманням третьої та/або, відповідно, четвертої водної фази.

Вказана перша водна фаза та вказана друга водна фаза, а також вказана друга тверда фаза та вказана друг водна фаза можуть бути розділені за допомогою відомих у цій галузі способів, як-то, наприклад, фільтрації та центрифугування. Переважно, вказані фази розділюють шляхом фільтрації.

Для доведення рН до прийнятних для наступної ферментації значень, може бути корисним піддати нейтралізації вказану першу водну фазу та/або вказану другу водну фазу.

У відповідності з бажаним втіленням заявленого винаходу, перед подачею у вказаний пристрій для ферментації або перед застосуванням вказаної обробки принаймні одним адсорбентом, вказану першу водну фазу та/або вказану другу водну фазу можна нейтралізувати шляхом додавання принаймні одного оксиду та/або принаймні одного гідроксиду як-то, наприклад, оксид кальцію, гідроксид кальцію або гідроксид барію або їх суміші.

Отримані після вказаного додавання солі можуть бути відокремлені від вказаної першої водної фази або від вказаної другої водної фази за допомогою прийнятних у цій галузі засобів, як-то, наприклад, фільтрації та центрифугування. Переважно, вказані солі відокремлюють шляхом фільтрації.

Вказана друга тверда фаза, що містить лігнін, може бути перетворена на паливо, наприклад, в якості палива для виробництва енергії, необхідної для підтримки процесів обробки біомаси, що містить щонайменш один полісахарид.

У відповідності з бажаним втіленням заявленого винаходу, вказана обробка принаймні одним адсорбентом може бути проведена при температурі у діапазоні 10 °C -150 °C, переважно у діапазоні 20 °C - 100 °C.

У відповідності з бажаним втіленням заявленого винаходу, вказана обробка принаймні одним адсорбентом може бути проведена під тиском у діапазоні 0.5-10 бар, переважно у діапазоні 0.8-2 бар.

У відповідності з бажаним втіленням заявленого винаходу, вказана обробка принаймні одним адсорбентом може бути проведена протягом часу у діапазоні 10 хв. - 6 год., переважно у діапазоні 30 хв. - 5 год.

В кінці обробки з принаймні одним адсорбентом, вказаний адсорбент може бути відокремлено зі вказаної третьої водної фази або зі вказаної четвертої водної фази за допомогою прийнятних у цій галузі засобів як-то, наприклад, фільтрації та центрифугування. Відокремлення вказаного адсорбенту переважно проводять за допомогою фільтрації.

Для цілей даного опису та наступної Формули Винаходу, під терміном "адсорбент" мається на увазі матеріал, природний або синтетичний, здатний до фізичного або хімічного ("хемосорбція") утримування на своїй поверхні органічних субстанцій.

У відповідності з бажаним втіленням заявленого винаходу, вказаний адсорбент може бути вибраний від мікропористих кристалічних силікатів або метало-силікатів цеолітичного типу, що має, наприклад, структурний тип MFI, MOR, FAU або BEA.

Особливими прикладами мікропористих кристалічних силікатів або метало-силікатів цеолітичного типу, що можуть бути успішно застосовані для цілей заявленого винаходу є цеоліти CBV2314 (структурний тип MFI зі співвідношенням Si/Al=12) та CBV 28014 (структурний тип MFI зі співвідношенням Si/Al=140) від Zeolyst International.

У відповідності з бажаним втіленням заявленого винаходу, вказаний адсорбент можна додати до вказаної першої водної фази та/або до вказаної другої водної фази у кількості у діапазоні 0.5 % - 50 % за вагою, переважно у діапазоні 3 % - 15 % за вагою по відношенню до загальної ваги вказаної першої водної фази або вказаної другої водної фази.

Вказана обробка принаймні одним адсорбентом може бути проведена у відомих у цій галузі реакторах, як-то, наприклад, реактори з перемішуванням, реактори з фіксованим (нерухомим) шаром або суспензійні реактори.

Вказану обробку принаймні одним адсорбентом можна проводити різними шляхами, як-то, наприклад, у безперервному режимі або порціями.

Слід зазначити, що вказана обробка принаймні одним адсорбентом зменшує вміст побічних продуктів, зокрема фурфуролу, гідроксиметил-фурфуролу та фенолових сполук, які можуть утворитися під час кислотного гідролізу вказаної біомаси, що містить принаймні один полісахарид та/або вказану першу тверду фазу та, як було зазначено вище, можуть діяти у якості інгібіторів зростання жирових дріжджів, застосованих у вищенаведеній ферментації, отже, можуть діяти у якості інгібіторів продукування ліпідів. Зокрема, після вказаної обробки принаймні одним адсорбентом, вказана третя водна фаза та вказана четверта водна фаза мають вміст фурфуролу та гідроксиметил-фурфуролу, що дорівнює або менший, ніж 0.1 г/л.

Також слід зазначити, що вказана обробка принаймні одним адсорбентом не викликає значного зменшення джерел вуглецю, присутніх у вказаній першій водній фазі або у вказаній другій водній фазі. Вказана третя водна фаза та вказана четверта водна фаза як правило, мають загальний вміст органічного вуглецю ("загальний органічний вуглець" - TOC), що дорівнює біля 90 % загального вмісту органічного вуглецю (TOC) вказаної першої водної фази або вказаної другої водної фази, відповідно. Вказаний загальний вміст органічного вуглецю (TOC) визначають шляхом високотемпературного спалювання зразка за допомогою TOC - аналізаторів, здатних визначити загальний вміст вуглецю ("загальний вуглець" - TC) та вміст неорганічного вуглецю ("неорганічний вуглець" - 1C), по різниці між якими обчислюють загальний вміст органічного вуглецю ("загальний органічний вуглець" - TOC).

Отже, слід зазначити, що вміст органічного матеріалу вказаної третьої водної фази або вказаної четвертої водної фази залишається істотно незмінним, якщо його порівнювати, відповідно, з вмістом органічного матеріалу вказаної першої водної фази або вказаної другої водної фази.

У відповідності з бажаним втіленням заявленого винаходу, вказана перша тверда фаза містить лігнін та целюлозу та вказана перша водна фаза містить принаймні один цукор, що має 5-6 карбонових атомів, переважно цукор, що має 5 карбонових атомів, більш переважно ксилозу, а також вказану неорганічну кислоту. Вказана ксилоза переважно походить від кислотного гідролізу геміцелюлози. Вказаний цукор, що має 5 карбонових атомів переважно є присутнім у вказаній першій водній фазі у кількості, що буде дорівнювати 60 % (за вагою) від загальної ваги цукрів у вказаній першій водній фазі або перевищувати це значення.

У відповідності з бажаним втіленням заявленого винаходу, вказана друга тверда фаза містить лігнін та вказана друга водна фаза містить принаймні один цукор, що має 5-6 карбонових атомів, переважно цукор, що має 6 карбонових атомів, більш переважно глюкозу, а також вказану неорганічну кислоту або вказаний фермент. Вказана глюкоза переважно походить від кислотного гідролізу або від ферментного гідролізу целюлози. Вказаний цукор, що

має 6 карбонових атомів переважно є присутнім у вказаній другій водній фазі у кількості, що буде дорівнювати 80 % (за вагою) від загальної ваги цукрів у вказаній другій водній фазі або перевищувати це значення.

5 Кількість цукрів, отриманих після кислотного або ферментного гідролізу можна визначити за допомогою прийнятих у цій галузі засобів як-то, наприклад, ВЕРХ-хроматографії (HPLC) або іонообмінної хроматографії. Більш детально визначення кількості цукрів наведено у наданих нижче Прикладах.

У відповідності з бажаним втіленням заявленого винаходу, вказану ферментацію можна здійснити з температурою у діапазоні 20 °C - 40 °C, переважно у діапазоні 25 °C -35 °C.

10 У відповідності з бажаним втіленням заявленого винаходу, вказану ферментацію можна здійснити протягом 2-10 днів, переважно протягом 3-8 днів.

У відповідності з бажаним втіленням заявленого винаходу вказану ферментацію можна здійснити зі значенням рН 4.5-7, переважно 5-6.7. Для підтримання значення рН у бажаних межах, до застосованого для ферментації культурального середовища можна додати водний розчин принаймні однієї неорганічної основи, як-то, наприклад, гідроксиду натрію, гідроксиду калію, гідроксиду кальцію, гідроксиду магнію або їх сумішей у кількості, прийнятній для отримання бажаного значення рН.

20 У відповідності з бажаним втіленням заявленого винаходу, вказані жирові дріжджі можна вибрати від *Rhodotorula glutinis*, *Rhodotorula gracilis*, *Rhodotorula graminis*, *Lypomices starkeyi*, *Lypomices lipofer*, *Trigonopsis variabilis*, *Candida kefir*, *Candida curvata*, *Candida lipolytica*, *Torulopsis sp.*, *Pichia stipitis*.

У відповідності з бажаним втіленням заявленого винаходу, вказана ферментація є періодичною ферментацією з підживленням або безперервною ферментацією, переважно це безперервна ферментація. У випадку безперервної ферментації, має місце рециркуляція біомаси, що містить принаймні один полісахарид.

Перед застосуванням у вказаній ферментації, вказані жирові дріжджі переважно підросшують у культуральному середовищі, що містить ксилоту, целюлозу, глюкозу або їх суміші з концентрацією, що переважно знаходиться у діапазоні 1 % - 2 % за вагою відносно загальної ваги вказаного культурального середовища.

30 Вказану ферментацію можна успішно здійснити за допомогою відомих у цій галузі ферментерів у присутності культуральних середовищ, які звичайно для цього застосовують та які містять різні поживні речовини, як-то, наприклад, азот, фосфат калію, магнію, солі та вітаміни.

Для отримання більшого виходу клітинної біомаси жирових дріжджів, вказана перша водна фаза а або вказана третя водна фаза можуть бути завантажені до вказаного ферментаційного пристрою у двох фазах.

У відповідності з бажаним втіленням заявленого винаходу, вказаний спосіб може полягати у завантаженні частини вказаної першої водної фази або вказаної третьої водної фази до вказаного ферментаційного пристрою, що працює при зазначених вище значеннях температури, тиску та рН з наступним завантаженням позostalої частини вказаної першої водної фази або вказаної третьої водної фази зі збільшенням швидкості завантаження при зазначених вище значеннях температури, тиску та рН. Слід зазначити, що вказана швидкість завантаження залежить від розмірів ферментаційного пристрою: наприклад, у разі 20- літрового ферментаційного пристрою вказана швидкість завантаження може бути у діапазоні від 0.5 л/год. (початкова швидкість завантаження) до 5 л/ год. (кінцева швидкість завантаження), переважно у діапазоні від 0.8 л/год. (початкова швидкість завантаження) до 3.5 л/год. (кінцева швидкість завантаження).

У відповідності з бажаним втіленням заявленого винаходу, вказана друга водна фаза або вказана четверта водна фаза може бути завантажена до вказаного ферментаційного пристрою зі збільшенням швидкості завантаження при зазначених вище значеннях температури, тиску та рН. Слід зазначити, що вказана швидкість завантаження залежить від розмірів ферментаційного пристрою: наприклад, у разі 20-літрового ферментаційного пристрою вказана швидкість завантаження може бути у діапазоні від 0.1 л/год. (початкова швидкість завантаження) до 0.4 л/год. (кінцева швидкість завантаження), переважно у діапазоні від 0.15 л/год. (початкова швидкість завантаження) до 0.35 л/год. (кінцева швидкість завантаження).

У відповідності з бажаним втіленням заявленого винаходу, вказана мікрофільтрація може бути проведена за допомогою мембран на основі відновленої целюлози (наприклад, мембран, відомих під торгівельною маркою "Hydrosart® Microfiltration Cassettes" від Sartorius) або за допомогою керамічних мембран (наприклад, мембран, відомих під торгівельною маркою "Ceram inside®" від Таті).

Як було зазначено вище, після завантаження вказаної другої водної фази або вказаної четвертої водної фази до вказаного ферментаційного пристрою, мікрофільтрація принаймні частини вказаного другого ферментативного бульйону дозволяє обсягу вказаного другого ферментативного бульйону постійно знаходитися у ферментаційному пристрої та підвищити

5 концентрацію вказаної другої біомаси клітин жирових дріжджів у вказаному другому ферментативному бульйоні, отже потребує для гідролізу менших кількостей біомаси, що містить принаймні один полісахарид та/або першу тверду фазу порівняно з кількостями, застосованими звичайним шляхом.

10 Слід зазначити, що час проведення та значення швидкості вказаної мікрофільтрації будуть залежати від різних параметрів, як-то, наприклад, розміри пристрою для ферментації, швидкість завантаження вказаної другої водної фази або вказаної четвертої водної фази до вказаного ферментаційного пристрою та швидкості зростання біомаси клітин жирових дріжджів. Наприклад, у разі 20 - літрового ферментаційного пристрою, вказана мікрофільтрація може

15 проводитися кожні 30 сек. - 5 год., переважно кожні 40 сек. - 4 год., з тривалістю у діапазоні 1-10 хв., переважно у діапазоні 2-8 хв. для кожного 24 - годинного циклу зі швидкістю фільтрації у діапазоні 50-200 мл/хв., переважно у діапазоні 100-180 мл/хв.

Для цілей даного опису та наступної Формули Винаходу, термін "ретентат" означає другу концентровану біомасу клітин жирових дріжджів.

20 Для цілей даного опису та наступної Формули Винаходу, термін "пермеат" означає відпрацьоване (вичерпане) культуральне середовище.

Слід зазначити, що ретентат завантажується до вказаного ферментаційного пристрою з такою ж саме швидкістю, як і вказані друга або четверта водна фаза.

З метою збільшення виходу ліпідів, до вказаного ферментаційного пристрою може бути додано кукурудзяний екстракт.

25 У відповідності з бажаним втіленням заявленого винаходу, вказаний спосіб додатково полягає у додаванні кукурудзяного екстракту до вказаного ферментаційного пристрою з кількістю у діапазоні 2 г/л - 20 г/л, переважно у діапазоні 4 г/л - 18 г/л. Вказаний кукурудзяний екстракт можна додати або перед завантаженням вказаної другої водної фази або перед завантаженням вказаної четвертої водної фази.

30 Для відновлення ліпідів, вказана друга біомаса клітин жирових дріжджів може бути піддана термальній обробці.

У відповідності з бажаним втіленням заявленого винаходу, вказаний спосіб також полягає у термальній обробці вказаної другої біомаси клітин жирових дріжджів, що містить ліпіди.

35 Вказана термальна обробка може бути проведена з застосуванням відомих у цій галузі способів та обладнання. Вказана термальна обробка, наприклад, може бути успішно проведена з застосуванням автоклавів під тиском (наприклад, Brignole autoclave, Mod. ALJ-2).

У відповідності з бажаним втіленням заявленого винаходу, вказана термальна обробка може бути проведена під тиском, що дорівнює 2-6,5 бар, переважно у діапазоні 3-5,5 бар.

40 У відповідності з бажаним втіленням заявленого винаходу, вказана термальна обробка може бути проведена при температурі 100 °C - 160 °C, переважно у діапазоні 110 °C-150 °C.

У відповідності з бажаним втіленням заявленого винаходу, вказана термальна обробка може бути проведена протягом 1-8 год., переважно у діапазоні 2-5 год.

При закінченні вказаної термальної обробки друга біомаса клітин жирових дріжджів може бути відновлена шляхом екстракції за допомогою, наприклад, рефлекс-екстрактора.

45 У відповідності з бажаним втіленням заявленого винаходу, вказана екстракція може бути проведеною у присутності принаймні одного органічного розчинника, переважно етилацетату.

У відповідності з бажаним втіленням заявленого винаходу, вказана екстракція може бути проведеною при температурі у діапазоні 20-60 °C, переважно у діапазоні 30 - 50 °C.

50 У відповідності з бажаним втіленням заявленого винаходу, вказана екстракція може бути проведеною у присутності розчинника у 2 x - 6 разовій кількості, переважно у 3 x- 5 разовій кількості від кількості біомаси клітин жирових дріжджів, що була отримана в результаті вказаної термальної обробки.

Отримана в результаті вказаної термальної обробки біомаса клітин жирових дріжджів може бути піддана однократній або багаторазовій екстракції. Переважно, вказану біомасу клітин 55 жирових дріжджів піддають 1-5 - разовій екстракції, більш переважно 1-3 разовій.

Для додаткового концентрування вказаної другої біомаси клітин жирових дріжджів, що містить ліпіди, перед термальною обробкою цю вказану другу біомасу клітин жирових дріжджів можна піддати центрифугуванню, де вказане центрифугування може бути проведено протягом 5-30 хв., переважно протягом 15-25 хв. зі швидкістю обертання у діапазоні 3,000-9,000 об/хв., 60 переважно 4,000-8,000 об/хв.

При закінченні вищевказаної екстракції отримують наступні дві фази:

(i) фаза розчинника, що містить ліпіди;

(ii) волога тверда фаза, що містить уламки клітин та сліди невідокремлених ліпідів.

Для відновлення ліпідів, вказану фазу розчинника (i) випарюють з отриманням твердої фази, що містить ліпіди.

Спосіб, який є предметом заявленого винаходу, робить можливим відновлення ліпідів з виходом у діапазоні 40 % - 98 %, переважно 45 % - 95 %, де вказаний вихід було обчислено відносно загальної кількості ліпідів, присутніх у отриманій після ферментації біомасі клітин жирових дріжджів (у сухому стані).

Ліпіди, що знаходяться у вказаній фазі розчинника (i) переважно є тригліцеридами, більш переважно - складними ефірами гліцерину з жирними кислотами, що мають 14-20 карбонових атомів, як-то, наприклад, пальмітинова кислота, стеаринова кислота, олеїнова кислота, альфа - лінолева кислота у кількості, що буде перевищувати або дорівнювати 80 % за вагою, переважно що буде перевищувати або дорівнювати 90 % за вагою по відношенню до загальної ваги ліпідів. Інші ліпіди, що можуть бути присутні у вказаній олійній фазі є фосфоліпідами, моногліцеридами, дигліцеридами або їх сумішами.

Кількість ліпідів у отриманій після ферментації біомасі клітин жирових дріжджів, а також кількість ліпідів у зазначеній олійній фазі можна визначити за допомогою прийнятних у цій галузі засобів як-то, наприклад, колориметричний спосіб на основі реакції ліпідів з фосфорною кислотою та фосфо-ваніліном. Додаткові подробиці, що мають відношення до цього способу можна знайти, наприклад, у статті "Chemical Basis of the Sulpho-phospho-vanillin Reaction for Estimating Total Serum Lipids", J. A. Knight et al., Clinical Chemistry (1972), Vol. 18, No. 3, стор. 199-202.

Вказана волога тверда фаза (ii), що містить уламки клітин, зокрема білки та полісахариди зі складу клітинної мембрани застосованих клітин жирових дріжджів, може бути відновлена та застосована у способі, який є предметом заявленого винаходу. Зокрема, її можна піддати кислотному гідролізу, в результаті якого мембранні білки та полісахариди гідролізуються до амінокислот та простих цукрів (наприклад, глюкози, манози), які потім можна буде застосувати у якості джерел вуглецю та азоту у наступній ферментації. Слід зазначити, що відновлення та застосування вказаної вологої твердої фази (ii) дозволяє постачати азот до застосованого для ферментації культурального середовища, таким чином зменшуючи кількість азоту, що звичайно додають до застосованого для ферментації культурального середовища та забезпечуючи процес ферментації додатковими цукрами.

У відповідності з бажаним втіленням заявленого винаходу, вказаний спосіб також полягає у піддаванні вказаної вологої твердої фази (ii) процесу кислотного гідролізу. В цьому випадку, вказана перша водна фаза або вказана друга водна фаза, на додачу до вказаного принаймні одного цукру, що має 5-6 карбонових атомів та до вказаної принаймні однієї органічної кислоти або до вказаного принаймні одного ферменту, також містить амінокислоти та прості цукри (наприклад, глюкозу, манозу), отримані шляхом кислотного гідролізу мембранних білків та полісахаридів; де вказана перша тверда фаза або вказана друга тверда фаза, на додачу до целюлози та/або лігніну також містить, негідралізовані уламки клітин.

Для отримання більшого виходу ліпідів (наприклад, більшого, ніж 98 %), вказана волога тверда фаза (ii) може бути екстрагована з розчинником або з сумішшю розчинника зі спиртом.

У відповідності з бажаним втіленням заявленого винаходу, вказаний спосіб також полягає у екстракції вказаної водної фази (ii) з принаймні одним розчинником, який може бути вибраним від аліфатичних вуглеводів, що мають 3-10 карбонових атомів, як-то наприклад, пентан, η-гексан, октан або їх суміші; або з сумішшю, що містить принаймні один аліфатичний спирт, що має 3-5 карбонових атомів та який може бути вибрано, наприклад, з ізопропанолу, n-бутанолу або їх сумішей та принаймні один аліфатичний вуглевод, що 3-10 карбонових атомів, вибраний від описаних вище. Вказаний органічний розчинник та/або вказану суміш потім випарюють з отриманням додаткової маслянистої фази, що містить ліпіди та додаткової вологої твердої фази, що містить уламки клітин.

Як описано вище для вологої твердої фази (ii), вказану додаткову вологу тверду фазу, отриману після вказаної екстракції також можна відновити та піддати кислотному гідролізу.

Для отримання гліцерину та алілових ефірів, зокрема метилових або етилових ефірів у якості дизельного палива біологічного походження, отримані відповідно до способу заявленого винаходу ліпіди можна піддати естерифікації у присутності принаймні одного спирту, що має 1-4 карбонових атомів, переважно метанолу, етанолу та принаймні одного кислого або основного каталізатора.

Альтернативно, вказані ліпіди можна піддати гідрогенізації / знекисненню у присутності водню та принаймні одного каталізатора для отримання "зеленого" дизельного палива. Процеси гідрогенізації / знекиснення добре відомі та описані, наприклад, у заявці на європейський патент EP 1,728,844.

5 Більш докладно заявлений винахід проілюстровано за допомогою двох варіантів втілення з наведеними нижче посиланнями на Фігури 1-2.

У Фіг. 1 схематично зображено перше втілення способу, що є предметом заявленого винаходу. Для цієї мети, біомасу, що містить принаймні один полісахарид (наприклад, попередньо подрібнену лігноцелюлозну біомасу) піддають кислотному гідролізу у присутності водного розчину неорганічної кислоти (наприклад, 0.5 % водного розчину сірчаної кислоти) з отриманням першої суміші, що містить першу водну фазу, яка містить ксилозу, отриману шляхом гідролізу геміцелюлози та вказаної неорганічної кислоти та першої твердої фази, що містить лігнін та целюлозу.

15 Вказану суміш піддають фільтрації (не зображено у Фіг. 1) з отриманням першої твердої фази та першої водної фази.

Після нейтралізації (наприклад, шляхом додавання гідроксиду кальцію) та наступної фільтрації (не зображено у Фіг. 1), вказану першу водну фазу завантажують до пристрою для ферментації у присутності жирових дріжджів (наприклад, *Rhodotorula graminis*) з отриманням першого ферментативного бульйону, що містить першу біомасу клітин жирових дріжджів (не зображено у Фіг. 1).

20 Потім вказану першу тверду фазу піддають гідролізу (наприклад, у присутності водного розчину неорганічної кислоти або водного розчину ферменту) з отриманням другої суміші, що містить другу водну фазу, яка містить глюкозу, отриману шляхом гідролізу целюлози та вказаної неорганічної кислоти або вказаного ферменту та другу тверду фазу, що містить лігнін, після чого вказану суміш піддають фільтрації (не зображено у Фіг. 1) з отриманням другої твердої фази та другої водної фази.

Після нейтралізації (наприклад, шляхом додавання гідроксиду кальцію) та наступної фільтрації (не зображено у Фіг. 1), вказану другу водну фазу завантажують у вищезгаданий пристрій для ферментації у присутності вказаного першого ферментативного бульйону, що містить першу біомасу клітин жирових дріжджів з отриманням другого ферментативного бульйону, що містить другу біомасу клітин жирових дріжджів, яка містить ліпіди (не зображено у Фіг. 1). Частину вказаного другого ферментативного бульйону піддають мікрофільтрації (наприклад, шляхом відбору зразків через перистальтичну помпу, яку активують щогодини протягом 4 хв. впродовж кожного 24 - годинного циклу, що працює зі швидкістю фільтрації у 150 мл/хв.) з отриманням ретентату (тобто другої концентрованої біомаси клітин жирових дріжджів), яку завантажують до вказаного ферментаційного пристрою та пермеату (тобто відпрацьованого культурального середовища), який усувають.

У Фіг. 2 схематично зображено друге втілення способу, що є предметом заявленого винаходу. З цієї метою, біомасу, що містить принаймні один полісахарид (наприклад, попередньо подрібнену лігноцелюлозну біомасу) піддають кислотному гідролізу у присутності водного розчину неорганічної кислоти (наприклад, 0.5 % водного розчину сірчаної кислоти) з отриманням першої суміші, що містить першу водну фазу, яка містить ксилозу, отриману шляхом гідролізу геміцелюлози та вказану неорганічну кислоту та першу тверду фазу, що містить лігнін та целюлозу, після чого вказану суміш піддають фільтрації (не зображено у Фіг. 2) з отриманням першої твердої фази та першої водної фази.

Після нейтралізації (наприклад, шляхом додавання гідроксиду кальцію) та наступної фільтрації (не зображено у Фіг. 2), вказану першу водну фазу піддають обробці принаймні одним адсорбентом (наприклад, цеоліт CBV28014 від Zeolyst) з отриманням третьої водної фази.

50 Потім вказану третю водну фазу завантажують у пристрій для ферментації у присутності жирових дріжджів (наприклад, *Rhodotorula graminis*) з отриманням першого ферментативного бульйону, що містить першу біомасу клітин жирових дріжджів (не зображено у Фіг. 2). Вказану першу тверду фазу піддають гідролізу (наприклад, у присутності водного розчину неорганічної кислоти або водного розчину ферменту) з отриманням другої суміші, що містить другу водну фазу, яка містить глюкозу, отриману шляхом гідролізу целюлози та вказану неорганічну кислоту або вказаний фермент та другу тверду фазу, що містить лігнін. Потім вказану суміш піддають фільтрації (не зображено у Фіг. 2) з отриманням другої твердої фази та другої водної фази.

Після нейтралізації (наприклад, шляхом додавання гідроксиду кальцію) та наступної фільтрації (не зображено у Фіг. 2), вказану другу водну фазу піддають обробці принаймні одним адсорбентом (наприклад, цеоліт CBV28014 від Zeolyst) з отриманням четвертої водної фази.

Вказану четверту водну фазу завантажують у вищевказаний пристрій для ферментації у присутності вказаного першого ферментативного бульйону, що містить першу біомасу клітин жирних дріжджів з отриманням другого ферментативного бульйону, що містить другу біомасу клітин жирних дріжджів, що містить ліпіди (не зображено у Фіг. 2). Частину вказаного другого ферментативного бульйону піддають мікрофільтрації (наприклад, шляхом відбору зразків через перистальтичну помпу, яку активують щогодини протягом 4 хв. впродовж кожного 24 - годинного циклу, що працює зі швидкістю фільтрації у 150 мл/хв.) з отриманням ретентату (тобто другої концентрованої біомаси клітин жирних дріжджів), яку завантажують до вказаного ферментаційного пристрою та пермеату (тобто відпрацьованого культурального середовища), який усувають.

Для кращого розуміння заявленого винаходу та для його втілення нижче наведено декілька ілюстративних та необмежувальних прикладів.

Приклад 1.

Для кислотного гідролізу, до 22.8 літрів 0.5 % водного розчину сірчаної кислоти додали 4 кг тополевої тирси (з частинками діаметром < 1 мм).

Склад композиції початкової лігноцелюлозної біомаси був наступним: 50 % (за вагою) целюлози, 25 % (за вагою) геміцелюлози, 25 % (за вагою) лігніну по відношенню до загальної ваги початкової лігноцелюлозної біомаси.

Отриману таким чином реакційну суміш інкубували у реакторі з перемішуванням протягом 10 хв. при 180 °C з отриманням першої суміші, що містила першу тверду фазу (що містила целюлозу та лігнін) та першу водну фазу (що містила цукри та сірчану кислоту). Потім вказану першу реакційну суміш вилучили з реактора та піддали фільтрації з отриманням наступних продуктів: 2.7 кг (сухої ваги) першої твердої фази (що містить целюлозу та лігнін) та 22 літрів першої водної фази (що містить 51 г/л цукрів, в тому числі 33 г/л ксилози, отриманої шляхом кислотного гідролізу геміцелюлозу та 9 г/л глюкози, отриманої шляхом кислотного гідролізу целюлози та сірчану кислоту). Потім вказану першу водну фазу нейтралізували у реакторі з перемішуванням шляхом додавання гідроксиду кальцію до досягнення значення pH 6.5, після чого її піддали фільтрації для усунення утвореної в ході реакції солі (тобто сульфату кальцію). Далі до вказаної першої водної фази у реакторі з перемішуванням додали 1.1 кг цеоліту CBV28014 (типу MFI зі співвідношенням Si/Al=140) від Zeolyst International та отриману суспензію інкубували ще 4 год. в умовах атмосферного тиску (1бар) при 25 °C з перемішуванням та наступним фільтруванням для відокремлення цеоліту з отриманням 22 літрів третьої водної фази, що мала вміст фурфуролу та гідроксиметилфурфуролу менший, ніж 0.1 г/л та вміст цукрів, що дорівнював 46.41 г/л, в тому числі 30 г/л ксилози та 8.3 г/л глюкози.

Вміст фурфуролу та гідроксиметилфурфуролу визначили шляхом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ; HPLC) з застосуванням колонки Zorbax Bonus RP (100 мм x 2.1 мм, 3.5 мкм) від Agilent, з рухомою фазою, що являла собою 0.01 mM оцтову кислоту у 0.2 % водному розчині мурашиної кислоти.

Вміст цукру визначили шляхом іонообмінної хроматографії (HPLC-EPAD) з застосуванням хроматографу Dionex, обладнаного колонкою Carborac PA100 з градієнтом гідроксиду натрію та ацетатом натрію у якості протиіону.

Потім до вищезазначених 2.7 кг вказаної першої твердої фази додали 18.4 літрів 0.5 % водного розчину сірчаної кислоти. Отриману таким чином реакційну суміш інкубували у реакторі з перемішуванням протягом 1 хв. при 230 °C з отриманням другої суміші, що містила другу тверду фазу (що містить лігнін) та другу водну фазу (що містить цукри та сірчану кислоту).

Далі вказану другу реакційну суміш вилучили з реактору та піддали фільтрації з отриманням наступних продуктів: 1.2 кг (сухої ваги) другої твердої фази (що містила лігнін) та 18 літрів другої твердої фази (що містила 53 г/л цукрів, в тому числі 52 г/л глюкози, отриманої шляхом кислотного гідролізу целюлози та сірчану кислоту). Вказану другу водну фазу нейтралізували у реакторі з перемішуванням шляхом додавання гідроксиду кальцію до досягнення значення pH 6.5 та потім піддали фільтрації для усунення утвореної в ході реакції солі (тобто сульфату кальцію). Далі до вказаної другої водної фази у реакторі з перемішуванням додали 1.1 кг цеоліту CBV28014 (типу MFI зі співвідношенням Si/Al=140) від Zeolyst International та отриману суспензію інкубували з перемішуванням ще 4 год. в умовах атмосферного тиску (1бар) при 25 °C з наступним фільтруванням для відокремлення цеоліту. В результаті цього процесу було отримано отримання 18 літрів четвертої водної фази, що має вміст фурфуролу та гідроксиметилфурфуролу менший, ніж 0.1 г/л (вказаний вміст вимірювали, як описано вище) та вміст цукрів, що дорівнював 48.23 г/л, в тому числі, він містив 47 г/л глюкози та сліди інших цукрів (вказаний вміст було визначено, як описано вище).

Для ферментації, яку проводили у 20 - літровому ферментері, штам DBVPG 4620 *Rhodotorula graminis* спочатку підрощували протягом ночі у середовищі YEPG для дріжджів з 2 % глюкози (за вагою) у 0.5 літрових колбах з перемішуванням (170 об/хв.) при 30 °C до досягнення концентрації, що дорівнювала 0.1 г/л (сухої ваги). Потім вказану культуру застосували в якості інокуляту. Отриманий, як описано вище інокулят завантажили до вищезазначеного ферментеру разом з 8 літрами вказаної третьої водної фази, отриманої як описано вище. Клітини штаму DBVPG 4620 *Rhodotorula graminis* підрощували протягом 36 год. при 30 °C з перемішуванням зі швидкістю 500 об/хв. зі значенням pH = 5.5 та в умовах аерації зі швидкістю 1 літр стерильного повітря / хв. на літр культури з отриманням 124 г першої біомаси клітин жирових дріжджів (концентрації, що була еквівалентна 15 г/л сухої ваги).

Після цього, позосталі 14 літрів вказаної третьої водної фази завантажили (порціонно) до вказаного ферментеру, що містив вказаний перший культуральний бульйон з першою біомасою клітин жирових дріжджів з підвищенням швидкості завантаження у діапазоні від 0.9 л/год. (початкова швидкість завантаження) до 2.5 л/год. (кінцева швидкість завантаження), з отриманням (через 44 год. з застосуванням зазначених вище робочих умов) обсягу культури, що дорівнював 20 літрів. У кінці інкубування було отримано 413 г. першої біомаси клітин жирових дріжджів (концентрації, що була еквівалентна 20.2 г/л сухої ваги).

18 літрів отриманої, як описано вище вказаної четвертої водної фази завантажили у безперервному режимі до вказаного ферментеру з підтриманням постійного значення обсягу ферментативного бульйону, що дорівнювало 20 літрів з підвищенням швидкості завантаження у діапазоні від 0.19 л/год. (початкова швидкість завантаження) до 0.31 л/год. (кінцева швидкість завантаження). Всю суміш інкубували протягом 76 год. при температурі у 30 °C з перемішуванням зі швидкістю 500 об/хв. зі значенням pH = 5.5 та в умовах аерації зі швидкістю 1 літр стерильного повітря / хв. на літр культури.

Потім, за допомогою перистальтичної помпи, обладнаної мембраною для мікрофільтрації "Hydrosart® Microfiltration Cassettes" від Sartorius, обладнання для мікрофільтрації під'єднали до ферментеру для усунення відпрацьованого культурального середовища (пермеату) та концентрування другої біомаси клітин жирових дріжджів (ретентату), отриманої у вказаному другому культуральному бульйоні. З цією метою, вказану перистальтичну помпу активували протягом 4 хв. щогодини впродовж кожного 24 - годинного циклу, видаляючи частину вказаного другого культурального бульйону, що містив вказану другу біомасу клітин жирових дріжджів з робочою швидкістю фільтрації, що дорівнювала 150 мл/хв. Вказану другу біомасу клітин жирових дріжджів таким чином концентрували у 5 разів з отриманням ретентату (тобто другої концентрованої біомаси клітин жирових дріжджів), який знову завантажили у ферментер зі швидкістю завантаження 0.31 л/год.; та пермеату (тобто відпрацьованого культурального середовища), якого було усунено. В кінці ферментації, клітини дріжджів зібрили та центрифугували протягом 20 хв. при 7, 000 об/хв. з отриманням 1,500 г. вказаної другої біомаси клітин жирових дріжджів (760 г (сухої ваги) - концентрація, що еквівалентна 38 г/л (сухої ваги)). Відновлення ліпідів проводили у 2х літровому автоклаві Brignole autoclave Mod. AU-2.

Для цієї мети, 1,500 г. (760 г сухої ваги) біомаси клітин жирових дріжджів, отриманих, як описано вище, завантажили на 4 години до вищевказаного автоклаву під тиском 4.9 бар з температурою 140 °C. Через 4 години інкубування у вищевказаних умовах, 1,410 г (714 г сухої ваги) біомаси клітин жирових дріжджів видалили з автоклава та піддали двом двохгодинним циклам екстракції у рефлюкс-екстракторі, що був обладнаний термостатом при температурі 45 °C та у присутності етилацетату (обсяг етилацетату в 4 рази перевищував вагу вказаної біомаси клітин жирових дріжджів) з наступним отриманням: (i) фази розчинника, що містила ліпіди та (ii) вологої твердої фази, що містила уламки клітин та сліди невідокремлених ліпідів. Вказану фазу розчинника (i) та вказану вологу тверду фазу (ii) розділили шляхом фільтрації.

Потім був визначений вміст ліпідів у вказаній фазі розчинника (i). Виявилось, що отриманий загальний вміст ліпідів дорівнював 342 г (відновлений вихід дорівнював 92 %, обчислених відносно загальної кількості ліпідів, присутніх в отриманій після ферментації вказаній другій біомасі клітин жирових дріжджів (у сухому стані)). Вміст ліпідів визначали за допомогою колориметричного способу на основі реакції ліпідів з фосфорною кислотою та фосфо-ваніліном.

Вказана волога тверда фаза (ii), що, як виявилось, містить воду та уламки клітин, містить 42 % за вагою (сухої ваги) полісахаридів та 45 % за вагою (сухої ваги) білків.

Вміст полісахаридів визначили шляхом спектрофотометрії з застосуванням способу Фехлінга; вміст білка визначили за допомогою способу Бредфорда.

Приклад 2.

Для кислотного гідролізу, до 22.8 літрів 0.5 % водного розчину сірчаної кислоти додали 4 кг тополевої тирси (з частинками діаметром < 1 мм).

Склад композиції початкової лігноцелюлозної біомаси був наступним: 50 % (за вагою) целюлози, 25 % (за вагою) геміцелюлози, 25 % (за вагою) лігніну по відношенню до загальної ваги початкової лігноцелюлозної біомаси.

Отриману таким чином реакційну суміш інкубували у реакторі з перемішуванням протягом 10 хв. при 180 °C з отриманням першої суміші, що містить першу тверду фазу (що містила целюлозу та лігнін) та першу водну фазу (що містила цукри та сірчану кислоту). Далі вказану першу реакційну суміш вилучили з реактора та піддали фільтрації з отриманням наступних продуктів: 2.7 кг (сухої ваги) першої твердої фази (що містила целюлозу та лігнін) та 22 літрів першої водної фази (що містила 51 г/л цукрів, в тому числі 33 г/л ксилози, отриманої шляхом кислотного гідролізу геміцелюлозу та 9 г/л глюкози, отриманої шляхом кислотного гідролізу целюлози та сірчану кислоту). Потім вказану першу водну фазу нейтралізували у реакторі з перемішуванням шляхом додавання гідроксиду кальцію до досягнення значення pH 6.5, після чого її піддали фільтрації для усунення утвореної в ході реакції солі (тобто сульфату кальцію). Далі до вказаної першої водної фази у реакторі з перемішуванням додали 1.1 кг цеоліту CBV28014 (типу MFI зі співвідношенням Si/Al=140) від Zeolyst International та отриману суспензію інкубували ще 4 год. в умовах атмосферного тиску (1бар) при 25 °C з перемішуванням та наступним фільтруванням для відокремлення цеоліту, після чого було отримано 22 літри третьої водної фази, що мала вміст фурфуролу та гідроксиметилфурфуролу менший, ніж 0.1 г/л та вміст цукрів, що дорівнює 46.41 г/л, в тому числі 30 г/л ксилози та 8.3 г/л глюкози.

Вміст фурфуролу та гідроксиметилфурфуролу визначили шляхом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ; HPLC) з застосуванням колонки Zorbax Bonus RP (100 мм x 2.1 мм, 3.5 мкм) від Agilent, з рухомою фазою, що являла собою 0.01 mM оцтову кислоту у 0.2 % водному розчині мурашиної кислоти.

Вміст цукру визначили шляхом іонообмінної хроматографії (HPAE-PAD) з застосуванням хроматографу Dionex, обладнаного колонкою Carborac PA100 з градієнтом гідроксиду натрію та ацетатом натрію у якості протиіону.

Потім до вищезазначених 2.7 кг вказаної першої твердої фази додали 18.4 літрів 0.5 % водного розчину сірчаної кислоти. Отриману таким чином реакційну суміш інкубували у реакторі з перемішуванням протягом 1 хв., при 230 °C з отриманням другої суміші, що містила другу тверду фазу (що містить лігнін) та другу водну фазу (що містить цукри та сірчану кислоту).

Далі вказану другу реакційну суміш вилучили з реактору та піддали фільтрації з отриманням наступних продуктів: 1.2 кг (сухої ваги) другої твердої фази (що містить лігнін) та 18 літрів другої твердої фази (що містить 53 г/л цукрів, в тому числі 52 г/л глюкози, отриманої шляхом кислотного гідролізу целюлози та сірчану кислоту). Вказану другу водну фазу нейтралізували у реакторі з перемішуванням шляхом додавання гідроксиду кальцію до досягнення значення pH 6.5 та потім піддали фільтрації для усунення утвореної в ході реакції солі (тобто сульфату кальцію). Далі до вказаної другої водної фази у реакторі з перемішуванням додали 1.1 кг цеоліту CBV28014 (типу MFI зі співвідношенням Si/Al=140) від Zeolyst International та отриману суспензію інкубували з перемішуванням ще 4 год. в умовах атмосферного тиску (1бар) при 25 °C з наступним фільтруванням для відокремлення цеоліту. В результаті цього процесу було отримано отримання 18 літрів четвертої водної фази, що має вміст фурфуролу та гідроксиметилфурфуролу менший, ніж 0.1 г/л (вказаний вміст вимірювали, як описано вище) та вміст цукрів, що дорівнював 48.23 г/л, в тому числі, він містив 47 г/л глюкози та сліди інших цукрів (вказаний вміст було визначено, як описано вище).

Для ферментації, яку проводили у 20 - літровому ферментері, штам DBVPG 4620 *Rhodotorula graminis* спочатку підрощували протягом ночі у середовищі YEPG для дріжджів з 2 % глюкози (за вагою) у 0.5 літрових колбах з перемішуванням (170 об/хв.) при 30 °C до досягнення концентрації, що дорівнювала 0.1 г/л (сухої ваги). Потім вказану культуру застосували в якості інокуляту.

Далі до вказаних 22 літрів отриманої, як описано вище третьої водної фази додали 15 г/л кукурудзяного екстракту. Отриманий, як описано вище інокулят завантажили до вищевказаного ферментера разом з 8 літрами вказаної третьої водної фази, що містила кукурудзяний екстракт.

Клітини штаму DBVPG 4620 *Rhodotorula graminis* підрощували протягом 36 год. при 30 °C з перемішуванням зі швидкістю 500 об/хв. зі значенням pH = 5.5 та в умовах аерації зі швидкістю 1 літр стерильного повітря /хв. на літр культури з отриманням 124 г першої біомаси клітин жирних дріжджів (концентрації, що була еквівалентна 15 г/л сухої ваги). Потім позостали 14 літрів вказаної третьої водної фази, що містили кукурудзяний екстракт були завантажені (порціонно) до вказаного ферментера, що містив вказаний перший культуральний бульйон з першою біомасою клітин жирних дріжджів з підвищенням швидкості завантаження у діапазоні

від 0.9 л/год. (початкова швидкість завантаження) до 2.5 л/год. (кінцева швидкість завантаження), з отриманням (через 44 год. з застосуванням зазначених вище робочих умов) обсягу культури, що дорівнював 20 літрів. У кінці інкубування було отримано 429 г. першої біомаси клітин жирових дріжджів (концентрація, що була еквівалентна 23.55 г/л сухої ваги). 18 літрів отриманої, як описано вище вказаної четвертої водної фази завантажили у безперервному режимі до вказаного ферментеру з підтриманням постійного значення обсягу ферментативного бульйону, що дорівнювало 20 літрів з підвищенням швидкості завантаження у діапазоні від 0.19 л/год. (початкова швидкість завантаження) до 0.31 л/год. (кінцева швидкість завантаження). Всю суміш інкубували протягом 76 год. при температурі у 30 °C з перемішуванням зі швидкістю 500 об/хв. зі значенням pH = 5.5 та в умовах аерації зі швидкістю 1 літр стерильного повітря / хв. на літр культури.

Потім, за допомогою перистальтичної помпи, обладнаної мембраною для мікрофільтрації "Hydrosart® Microfiltration Cassettes" від Sartorius, обладнання для мікрофільтрації під'єднали до ферментеру для усунення відпрацьованого культурального середовища (пермеату) та концентрування другої біомаси клітин жирових дріжджів (ретентату), отриманої у вказаному другому культуральному бульйоні. З цією метою, вказану перистальтичну помпу активували щогодини протягом 4 хв. впродовж кожного 24 - годинного циклу, видаляючи частину вказаного другого культурального бульйону, що містив вказану другу біомасу клітин жирових дріжджів з робочою швидкістю фільтрації, що дорівнювала 150 мл/хв. Вказану другу біомасу клітин жирових дріжджів таким чином концентрували у 5 разів з отриманням ретентату (тобто другої концентрованої біомаси клітин жирових дріжджів), який знову завантажили у ферментер зі швидкістю завантаження 0.31 л/год.; та пермеату (тобто відпрацьованого культурального середовища), якого було усунено. В кінці ферментації, клітини дріжджів зібрали та центрифугували протягом 20 хв. при 7, 000 об/хв. з отриманням 1,560 г. вказаної другої біомаси клітин жирових дріжджів (790 г (сухої ваги) - концентрація, що еквівалентна 39.5 г/л (сухої ваги)). Відновлення ліпідів проводили у 2х літровому автоклаві Brignole autoclave Mod. AU-2.

Для цієї мети, 1,560 г. (790 г сухої ваги) біомаси клітин жирових дріжджів, отриманих, як описано вище, завантажили на 4 години до вищевказаного автоклаву під тиском 4.9 бар з температурою 140 °C. Через 4 години інкубування у вищевказаних умовах, 1,466 г (742 г сухої ваги) біомаси клітин жирових дріжджів видалили з автоклава та піддали двом двохгодинним циклам екстракції у рефлекс-екстракторі, що був обладнаний термостатом при температурі 45 °C та у присутності етилацетату (обсяг етилацетату в 4 рази перевищував вагу вказаної біомаси клітин жирових дріжджів) з наступним отриманням (i) фази розчинника, що містила ліпіди та (ii) вологої твердої фази, що містила уламки клітин та сліди невідокремлених ліпідів. Вказану фазу розчинника (i) та вказану вологу тверду фазу (ii) розділили шляхом фільтрації.

Потім був визначений вміст ліпідів у вказаній фазі розчинника (i). Виявилось, що отриманий загальний вміст ліпідів дорівнював 418 г (відновлений вихід дорівнював 94 %, обчислених відносно загальної кількості ліпідів, присутніх в отриманій після ферментації вказаній другій біомасі клітин жирових дріжджів (у сухому стані)). Вміст ліпідів визначали за допомогою колориметричного способу на основі реакції ліпідів з фосфорною кислотою та фосфо-ваніліном.

Вказана волога тверда фаза (ii), що, як виявилось, містить воду та уламки клітин, містить 42 % за вагою (сухої ваги) полісахаридів та 45 % за вагою (сухої ваги) білків.

Вміст полісахаридів визначили шляхом спектрофотометрії з застосуванням способу Фехлінга; вміст білка визначили за допомогою способу Бредфорда.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Спосіб отримання ліпідів з біомаси, яка містить принаймні один полісахарид, що полягає у:

- кислотному гідролізі вказаної біомаси, що містить принаймні один полісахарид з отриманням першої суміші, що містить першу тверду фазу та першу водну фазу;
- завантаженні вказаної першої водної фази у пристрій для ферментації у присутності принаймні однієї культури жирових дріжджів з отриманням першого ферментативного бульйону, що містить першу біомасу культури клітин жирових дріжджів;
- кислотному або ферментному гідролізі вказаної першої твердої фази з отриманням другої суміші, що містить другу тверду фазу та другу водну фазу;
- завантаженні вказаної другої водної фази у вказаний ферментаційний пристрій у присутності вказаного першого ферментативного бульйону з отриманням другого ферментативного бульйону, що містить другу біомасу культури клітин жирових дріжджів, що містить ліпіди;
- мікрофільтрації принаймні частини вказаного другого ферментативного бульйону з отриманням ретентату та пермеату;

- завантаженні вказаного ретентату у вказаний ферментаційний пристрій.

2. Спосіб отримання ліпідів з біомаси, яка містить принаймні один полісахарид за п. 1, де вказана біомаса, що містить принаймні один полісахарид, є лігноцелюлозною біомасою.

5 3. Спосіб отримання ліпідів з біомаси, яка містить принаймні один полісахарид за будь-яким з попередніх пунктів, де вказану біомасу, що містить принаймні один полісахарид, піддають попередньому подрібненню перед вказаним кислотним гідролізом.

4. Спосіб отримання ліпідів з біомаси, яка містить принаймні один полісахарид за будь-яким з попередніх пунктів, де вказаний кислотний гідроліз проводять у присутності принаймні однієї неорганічної кислоти.

10 5. Спосіб отримання ліпідів з біомаси, яка містить принаймні один полісахарид за будь-яким з попередніх пунктів, де вказана біомаса, що містить принаймні один полісахарид, або вказана перша тверда фаза є присутньою у реакційній суміші у кількості у діапазоні 5-20 % за вагою відносно загальної ваги реакційної суміші.

15 6. Спосіб отримання ліпідів з біомаси, яка містить принаймні один полісахарид за будь-яким з попередніх пунктів, де вказана неорганічна кислота є вибраною з сірчаної кислоти, азотної кислоти, соляної кислоти, фосфорної кислоти або їх сумішей.

7. Спосіб отримання ліпідів з біомаси, яка містить принаймні один полісахарид за будь-яким з попередніх пунктів, де вказана неорганічна кислота є присутньою у вказаному водному розчині у концентрації в діапазоні 0,1-2 % за вагою відносно загальної ваги водного розчину.

20 8. Спосіб отримання ліпідів з біомаси, яка містить принаймні один полісахарид, за будь-яким з попередніх пунктів, де вказаний кислотний гідроліз проводять при температурі в діапазоні 140-270 °C.

25 9. Спосіб отримання ліпідів з біомаси, яка містить принаймні один полісахарид, за будь-яким з попередніх пунктів, де вказаний кислотний гідроліз проводять протягом часу у діапазоні 10 сек. - 30 хв.

10. Спосіб отримання ліпідів з біомаси, яка містить принаймні один полісахарид, за будь-яким з попередніх пунктів, де вказану першу водну фазу та/або вказану другу водну фазу піддають обробці принаймні одним адсорбентом з отриманням третьої водної фази та/або четвертої водної фази, відповідно.

30 11. Спосіб отримання ліпідів з біомаси, яка містить принаймні один полісахарид, за будь-яким з попередніх пунктів, де перед завантаженням у вказаний ферментаційний пристрій або перед вказаною обробкою принаймні одним адсорбентом вказану першу водну фазу та/або вказану другу водну фазу піддають нейтралізації шляхом додавання принаймні одного оксиду та/або принаймні одного гідроксиду, такого як оксид кальцію, гідроксиду кальцію, гідроксиду барію або їх сумішей.

35 12. Спосіб отримання ліпідів з біомаси, яка містить принаймні один полісахарид, за п. 10 або 11, де вказану обробку принаймні одним адсорбентом проводять при температурі в діапазоні 10-150 °C.

40 13. Спосіб отримання ліпідів з біомаси, яка містить принаймні один полісахарид, за будь-яким з пп. 10-12, де вказану обробку принаймні одним адсорбентом проводять під тиском у діапазоні 0,5-10 бар.

14. Спосіб отримання ліпідів з біомаси, яка містить принаймні один полісахарид, за будь-яким з пп. 10-13, де вказану обробку принаймні одним адсорбентом проводять протягом часу у діапазоні 10 хв. - 6 год.

45 15. Спосіб отримання ліпідів з біомаси, яка містить принаймні один полісахарид, за будь-яким з пп. 10-14, де вказаний адсорбент є вибраним від кристалічних мікропористих силікатів або металічних силікатів цеолітного типу, що мають структури типу MFI, MOR, FAU або BEA.

50 16. Спосіб отримання ліпідів з біомаси, яка містить принаймні один полісахарид, за будь-яким з пп. 10-15, де вказаний адсорбент додають до вказаної першої водної фази та/або до вказаної другої водної фази у кількості у діапазоні 0,5-50 % за вагою відносно загальної ваги вказаної першої водної фази або вказаної другої водної фази.

17. Спосіб отримання ліпідів з біомаси, яка містить принаймні один полісахарид, за будь-яким з попередніх пунктів, де вказану ферментацію проводять при температурі у діапазоні 20-40 °C.

55 18. Спосіб отримання ліпідів з біомаси, яка містить принаймні один полісахарид, за будь-яким з попередніх пунктів, де вказану ферментацію проводять протягом часу в діапазоні 2-10 днів.

19. Спосіб отримання ліпідів з біомаси, яка містить принаймні один полісахарид, за будь-яким з попередніх пунктів, де вказану ферментацію проводять при pH у діапазоні 4,5-7.

20. Спосіб отримання ліпідів з біомаси, яка містить принаймні один полісахарид, за будь-яким з попередніх пунктів, де вказана культура жирних дріжджів є вибраною з: *Rhodotorula glutinis*,

Rhodotorula gracilis, *Rhodotorula graminis*, *Lypomices starkeyi*, *Lypomices lipofer*, *Trigonopsis variabilis*, *Candida kefir*, *Candida curvata*, *Candida lipolytica*, *Torulopsis sp.*, *Pichia stipitis*.

21. Спосіб отримання ліпідів з біомаси, яка містить принаймні один полісахарид, за будь-яким з попередніх пунктів, де вказану мікрофільтрацію проводять при використанні мембран на основі відновленої целюлози або при використанні керамічних мембран.

22. Спосіб отримання ліпідів з біомаси, яка містить принаймні один полісахарид, за будь-яким з попередніх пунктів, де вказаний спосіб, зокрема, полягає у додаванні кукурудзяного екстракту у вказаний ферментаційний пристрій у кількості 2-20 г/л.

23. Спосіб отримання ліпідів з біомаси, яка містить принаймні один полісахарид, за будь-яким з попередніх пунктів, де вказаний спосіб, зокрема, полягає у термічній обробці вказаної другої біомаси культури клітин жирних дріжджів, що містить ліпіди.

24. Спосіб отримання ліпідів з біомаси, яка містить принаймні один полісахарид, за п. 23, де вказану термічну обробку проводять під тиском у діапазоні 2-6,5 бар.

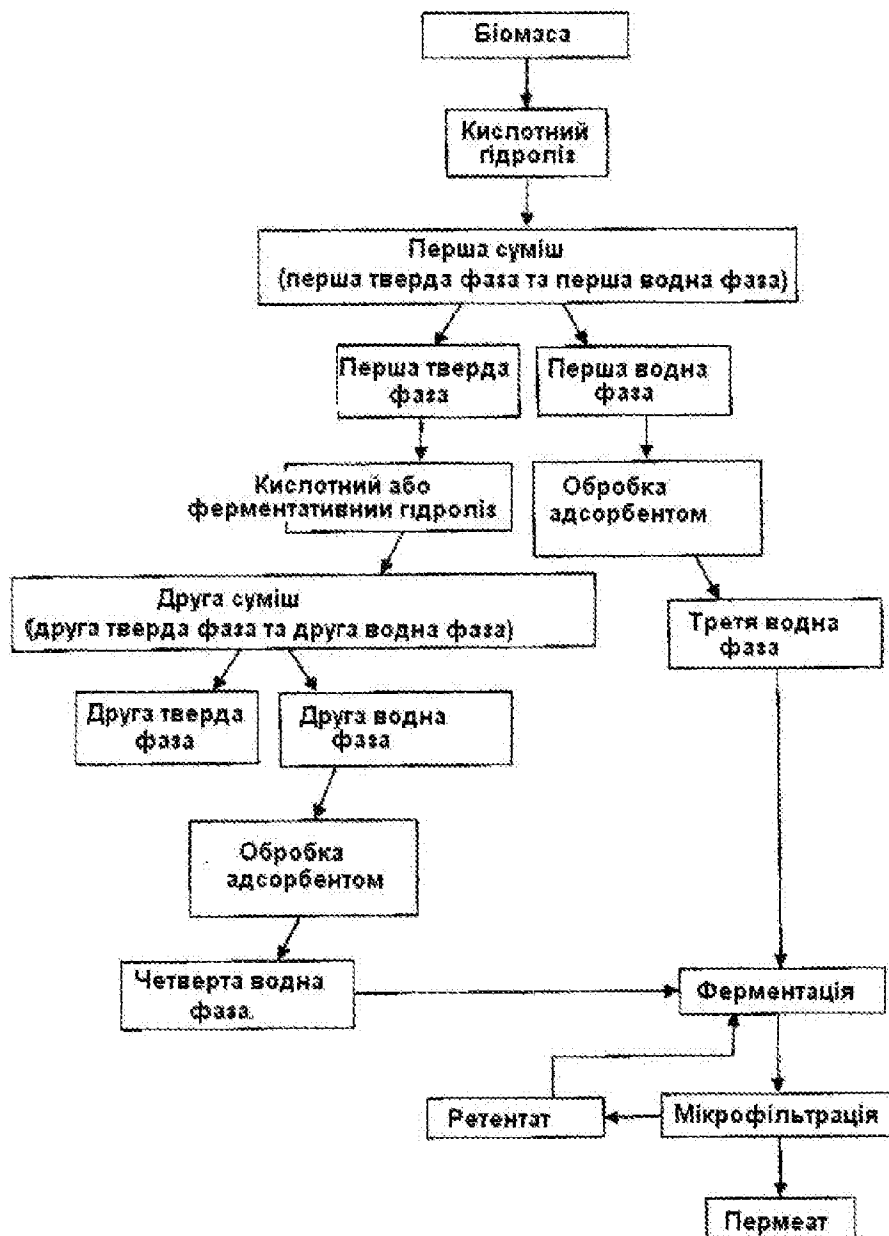
25. Спосіб отримання ліпідів з біомаси, яка містить принаймні один полісахарид, за п. 23 або 24, де вказану термічну обробку проводять при температурі у діапазоні 100-160 °C.

26. Спосіб отримання ліпідів з біомаси, яка містить принаймні один полісахарид відповідно за будь-яким з пп. 23-25, де вказану термічну обробку проводять протягом часу у діапазоні 1-8 год.

27. Спосіб отримання ліпідів з біомаси, яка містить принаймні один полісахарид, за будь-яким з пп. 23-26, де у кінці вказаної термічної обробки біомасу культури клітин жирних дріжджів піддають екстракції у присутності принаймні одного органічного розчинника такого як етилацетат.



Фіг. 1



Фіг. 2

Комп'ютерна верстка Г. Паяльніков

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601