Настоящее изобретение относится к способу получения липида из композиции, содержащей клетки и воду. Изобретение также относится к липиду, который можно получить таким способом.

Липиды могут продуцироваться микроорганизмами, например, в процессе ферментации. Они также могут присутствовать в клетках растений. Липиды имеют различные применения и могут, например, входить в состав пищевых продуктов, кормов, биологически активных добавок к пище и фармацевтических препаратов.

Получение липида из клеток часто заключается в получении липида из композиции, содержащей клетки и воду. Композиция может представлять собой, например, культуральную жидкость или частично обезвоженный продукт, полученный отделением части воды от культуральной жидкости, например, механическими методами сепарации. Известны различные способы извлечения липида из композиции, содержащей клетки и воду. Например, известна сушка композиции методом распылительной сушки и извлечение липида из высушенной композиции экстракцией органическим растворителем. Однако качество липида может ухудшиться в условиях, которые преобладают во время распылительной сушки. Кроме того, морфология высушенного продукта может сделать последующую экстракцию менее эффективной.

В WO-A-97036996 описывается способ получения липида из микробных клеток, включающий грануляцию клеток в гранулы, предпочтительно, экструзией. Гранулы сушат, и липид получают из высушенных гранул, например, экстракцией органическим растворителем. Экстракция является эффективной, полученный липид имеет высокое качество и выход, т.е. количество извлеченного липида относительно количества липида, присутствующего в клетках, является высоким.

Несмотря на преимущества способа по WO-A-97036996, все еще существует потребность в дальнейшем усовершенствовании. В частности, способ включает относительно много стадий, таких как грануляция и сушка гранул. Кроме того, стадия сушки требует энергии. Поэтому существует потребность в способе, требующем меньше стадий, на которых можно сберечь энергию и которые позволяют экстрагировать липид эффективным способом.

Такая цель достигается согласно изобретению способом получения липида из композиции, содержащей клетки и воду, который включает

(a) контактирование композиции с осушающим веществом и

(b) извлечение липида из клеток.

Способ по изобретению делает возможным получение липида высокого качества с высоким выходом. Согласно изобретению сушка клеток нагреванием перед извлечением липида из клеток не требуется. Это является особым преимуществом в случае липида, чувствительного к нагреванию, например, липида, содержащего полиненасыщенную жирную кислоту (ПНЖК). Способ по изобретению также имеет преимущество в том, что образование тонко измельченного порошка или пылевидного порошка, которые образуются, например, при известных в технике способах, которые включают сушку распылением или измельчение, устраняется или сводится к минимуму. Более того, обнаружено, что когда липид извлекают экстракцией растворителем, достаточным является относительно небольшое количество растворителя для получения относительно высокого выхода. Изобретение также дает возможность извлечения липида экстракцией в присутствии осушителя, т.е. нет необходимости отделения осушителя от клеток. Поэтому экстракцию можно осуществлять в присутствии воды, адсорбированной осушителем. Это является неожиданностью потому, что в известном уровне техники отстаивается необходимость удаления воды для того, чтобы получить высокие выходы (см., например, WO-A-97036996).

Способ по изобретению включает контактирование композиции, содержащей клетки и воду, с осушителем. В результате вода извлекается из композиции осушителем. Извлечение воды может представлять собой адсорбцию и/или абсорбцию. Осушающее вещество не ограничивается определенным осушителем, и самые различные вещества, способные извлекать воду из композиции путем адсорбции и/или абсорбции, могут использоваться в качестве осушителя. Такие вещества в технике также называют адсорбентами и/или абсорбентами.

Примерами осушителей, которые можно использовать в способе, являются, например, диоксид кремния (например, силикагель), активированный уголь, активированный оксид алюминия, молекулярные сита (например, углеродные молекулярные сита или цеолит) или сшитый полимер (например, полиакрилат). Предпочтителен диоксид кремния. Предпочтительно, осушитель имеет форму частиц.

Предпочтительно, осушитель имеет высокую абсорбционную способность. Абсорбционная способность определяется количеством воды, которое может быть абсорбировано, на количество осушителя. Относительно высокая абсорбционная способность имеет то преимущество, что оптимальные выходы при экстрагировании можно получить с использованием относительно небольших количеств осушителя. Осушитель может иметь абсорбционную способность по меньшей мере 50 г воды на 100 г осушителя, предпочтительно по меньшей мере 100 г воды на 100 г осушителя. Не существует определенного верхнего предела абсорбционной способности. На практике абсорбционная способность для воды ниже 20000 г воды на 100 г осушителя, например, ниже 10000 г воды на 100 г осушителя. Используемое в данном описании значение массы осушителя относится к массе осушителя в обезвоженном состоянии. Абсорбционную способность можно определить методами, известными специалистам. Подходящим способом является определение абсорбции методом DBP, например, согласно DIN 53601.

Предпочтительно, осушитель имеет высокую площадь удельной поверхности. Преимущество относительно высокой площади удельной поверхности состоит в том, что оптимальные выходы при экстрагировании можно получить с использованием относительно небольших количеств осушителя. Осушитель может иметь, например, площадь удельной поверхности по меньшей мере 25 $м^2$/г, предпочтительно по меньшей мере 50 $м^2$/г, предпочтительно по меньшей мере 100 $м^2$/г. Не существует определенного верхнего предела площади удельной поверхности осушителя. На практике площадь удельной поверхности ниже 2000 $м^2$/г, например ниже 1000 $м^2$/г. Площадь удельной поверхности можно определить методами, известными специалистам, например, согласно ISO 5794/1, Приложение D.

В предпочтительном воплощении осушитель является пористым. Преимущество этого в том, что площадь поверхности, доступная для адсорбции, является относительно высокой.

В способе по изобретению композиция, которую вводят в контакт с осушителем, может содержать воду в любом подходящем количестве. Содержание воды в композиции, которую вводят в контакт с осушителем, может составлять, например, по меньшей мере 5 мас.%, например, по меньшей мере 10 мас.%, например, по меньшей мере 20 мас.%, например, по меньшей мере 30 мас.%. Не существует определенного верхнего предела содержания воды в композиции, которую вводят в контакт с осушителем. Содержание воды в композиции, которую вводят в контакт с осушителем, например, может быть ниже 98 мас.%, предпочтительно ниже 95 мас.%, предпочтительно ниже 90 мас.%, предпочтительно ниже 80 мас.%, предпочтительно ниже 70 мас.%. Более низкое содержание воды имеет то преимущество, что можно использовать меньше осушителя для получения оптимального выхода.

Используемое в данном описании содержание воды в клетках задается выражением

$$w_в/(w_{клеток}+w_в)\cdot 100\%,$$

где W_B= масса воды в композиции;

$W_{клеток}$= масса сухого вещества клеток в композиции.

Специалисту будет понятно, что масса сухого вещества клеток ($W_{клеток}$) определяет массу клеток, свободных от влаги, но включает массу липида. Следует иметь в виду, что масса воды, содержащейся в композиции (W_B), включает общую массу воды в композиции, включая внутриклеточную, межклеточную и внеклеточную воду. Величины W_B и $W_{клеток}$ и, соответственно, содержание воды в композиции можно определить способами, известными специалистам, например, выпариванием воды при температуре 105°C и определением массы выпаренной воды и оставшихся клеток. Можно использовать, например, определение остатка вещества после сушки инфракрасными лучами.

В предпочтительном воплощении изобретение относится к предпочтительным количествам осушителя, который вводят в контакт с композицией. Обнаружено, что выход при экстракции возрастает с возрастанием количества осушителя, который вводят в контакт с композицией, до тех пор, пока не достигается оптимальный выход. На основании такого указания согласно изобретению специалист может, изменяя количество осушителя, определить оптимальное количество осушителя в любой ситуации.

В частности, обнаружено, что предпочтительные количества осушителя зависят от содержания воды в композиции и от свойств осушителя. В предпочтительном воплощении

$$w_{осуш}/(w_{клеток(а)}+w_{в(а)}) > (1/x)\cdot(1-w_{клеток(а)}/(0{,}8\cdot(w_{клеток(а)}+w_{в(а)}))),$$

где $W_{осуш}$ = масса сухого вещества осушителя, который вводят в контакт с композицией на (а);

$W_{клеток(а)}$ = масса сухого вещества клеток в композиции, которую вводят в контакт с осушителем на (а);

$W_{B(а)}$ = масса воды в композиции, которую вводят в контакт с осушителем на (а);

x = абсорбционная способность осушителя.

В другом предпочтительном воплощении

$$w_{осуш}/(w_{клеток(а)}+w_{в(а)}) > (1/x)\cdot(1-w_{клеток(а)}/(0{,}9\cdot(w_{клеток(а)}+w_{в(а)}))).$$

В предпочтительном воплощении способ по изобретению включает контактирование композиции с таким количеством осушителя, что выход составляет по меньшей мере 70%, предпочтительно по меньшей мере 80%, предпочтительнее по меньшей мере 90%. Как используется в данном описании, выход означает количество липида, извлеченного из клеток, относительно количества липида, присутствующего в клетках.

Композиция, которую вводят в контакт с осушителем, может представлять собой любую композицию, содержащую клетки и воду, из которой можно получить липид. Композиция может представлять собой, например, культуральную среду или частично обезвоженный продукт, полученный отделением воды от культуральной жидкости, например, механической сепарацией. Композиция может представлять собой, например, влажный осадок, жидкий осадок, кашицу, концентрат и/или пасту. Хотя согласно изобретению грануляция не является необходимой, способ по изобретению также дает преимущества, когда клетки находятся в форме гранул, например, экструдата.

Контактирование композиции с осушителем можно осуществить любым подходящим способом, предпочтительно, смешивая композицию с осушителем для получения смеси, содержащей клетки и осушитель. Липид можно извлечь из смеси, например, экстракцией растворителем.

С учетом указанного выше, в предпочтительном воплощении изобретение относится к способу получения липида из композиции, содержащей клетки и воду, причем указанный способ включает (a) смешивание композиции с осушителем с образованием смеси, содержащей клетки и осушитель; и (b) извлечение липида из смеси.

В другом аспекте изобретение также относится к смеси, содержащей (i) клетки, содержащие липид, и (ii) осушитель. Следует иметь в виду, что предпочтительные аспекты и/или воплощения способа по изобретению применяют к смеси по изобретению.

В предпочтительном воплощении смесь также содержит воду, где

$$w_{осуш,\ смесь}/(w_{клеток,\ смесь} + w_{в,\ смесь}) > (1/x)\cdot(1 - w_{клеток,\ смесь}/(0{,}8\cdot(w_{клеток,\ смесь} + w_{в,\ смесь})))$$

предпочтительно

$$w_{осуш,\ смесь}/(w_{клеток,\ смесь} + w_{в,\ смесь}) > (1/x)\cdot(1 - w_{клеток,\ смесь}/(0{,}9\cdot(w_{клеток,\ смесь} + w_{в,\ смесь})))$$

где $W_{осуш,\ смесь}$ = масса осушителя в смеси;

$W_{клеток,\ смесь(a)}$ = масса сухого вещества клеток в смеси;

$W_{В,\ смесь(a)}$ = масса воды в смеси;

x = абсорбционная способность осушителя.

Смешивание можно осуществить в любом подходящем смесителе, например, в смесителе с высоким сдвиговым усилием, например в шнековом смесителе Orbit, лопастной мешалкой, в барабанном смесителе с усиленными стержнями или в смесителе Diosna.

Липид можно извлечь из клеток, полученных при контакте на (a), любым подходящим способом. Липид, например, можно извлечь экстракцией растворителем после или во время контакта композиции с осушителем.

В предпочтительном воплощении липид извлекают из клеток экстракцией растворителем. Можно использовать самые разные растворители. Растворитель может представлять собой, например, сложный C_{1-10}-алкилэфир (например, этил- или бутилацетат), толуол, C_{1-3}-спирт (например, метанол, пропанол), C_{3-6}-алканы (например, гексан) или жидкость в сверхкритическом состоянии (например, жидкий CO_2 или пропан в сверхкритическом состоянии). Также допустимы смеси растворителей. В предпочтительном воплощении растворитель представляет собой органический растворитель. Способ по изобретению особенно выгоден, если растворитель представляет собой неполярный растворитель. Наиболее предпочтительно, растворителем является гексан или CO_2 в сверхкритическом состоянии.

Клетки или смесь, содержащую клетки, можно ввести в контакт с растворителем любым подходящим способом, например экстракцией перколяцией, противоточной экстракцией или экстракцией в смесителе. Экстракция в смесителе предпочтительна. В предпочтительном воплощении используют 2-40 мас.ч. растворителя на массовую часть клеток.

В воплощении изобретения, по меньшей мере, часть осушителя (например, по меньшей мере 50%) отделяют от смеси перед контактированием клеток с растворителем. В предпочтительном воплощении в контакт с растворителем вводят смесь, содержащую клетки и по меньшей мере часть осушителя. Соответственно, извлечение липида экстракцией растворителем может быть эффективным в присутствии (по меньшей мере, части) осушителя. Преимуществом является то, что стадия отделения осушителя от клеток не требуется. Неожиданно, способ по изобретению еще приводит к эффективной экстракции даже в присутствии воды. В воплощении

$$w_{в(b)}/w_{клеток(b)} > 0{,}5\cdot w_{в(a)}/w_{клеток\ (a)}$$

где $W_{B(b)}$ = масса воды в смеси, из которой извлекают липид на (b);

$W_{клеток(b)}$ = масса сухого вещества клеток в смеси, из которой извлекают липид на (b);

$W_{B(a)}$ = масса воды в композиции, которую вводят в контакт с осушителем на (a);

$W_{клеток(a)}$ = масса сухого вещества клеток в композиции, которую вводят в контакт с осушителем на (a).

В другом воплощении

$$w_{в(b)}/w_{клеток(b)} > 0{,}7\cdot w_{в(a)}/w_{клеток\ (a)},$$

В другом воплощении

$$w_{в(b)}/w_{клеток(b)} > 0{,}8\cdot w_{в(a)}/w_{клеток\ (a)},$$

В другом воплощении

$$w_{в(b)}/w_{клеток(b)} > 0{,}9\cdot w_{в(a)}/w_{клеток\ (a)},$$

Способ по изобретению можно использовать для получения самых разных липидов из самых разных клеток. Липид может содержать, например, одно или несколько соединений из числа следующих соединений: липстатин, статин, TAPS, пимарицин, нистатин, жирорастворимый антибиотик (например, ладиомицин), жирорастворимый антиоксидант (например, коэнзим Q10), холестерин, фитостерин, десмостерин, токотриенол, токоферол, каротиноид или ксантофиллы, например, бета-каротин, лютеин, ликопен, астаксантин, зеаксантин или кантаксантин, жирные кислоты, такие как конъюгированные линолевые кислоты, или полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК). В предпочтительном воплощении ли-

пид содержит по меньшей мере одно из соединений, указанных выше, в концентрации 5 мас.%, предпочтительнее, по меньшей мере, 10 мас.% (относительно массы липида).

Можно получить липид, содержащий, например, триглицерид, фосфолипид, свободную жирную кислоту, эфир жирной кислоты (например, метиловый или этиловый эфир) и/или их сочетание. В предпочтительном воплощении липид имеет содержание триглицеридов по меньшей мере 50%, предпочтительнее по меньшей мере 70%, оптимально по меньшей мере 90%.

В особенно предпочтительном воплощении изобретения липид содержит полиненасыщенную жирную кислоту (ПНЖК), например, ПНЖК по меньшей мере с 18 атомами углерода, например ПНЖК С18, С20 или С22. В предпочтительном воплощении ПНЖК представляет собой омега-3 ПНЖК (Ω3) или омега-6 ПНЖК (Ω6). Предпочтительно ПНЖК содержит по меньшей мере 3 двойные связи. Предпочтительными ПНЖК являются

докозагексаеновая кислота (DHA, 22:6 Ω3);

γ-линоленовая кислота (GLA, 18:3 Ω6);

α-линоленовая кислота (ALA, 18:3 Ω3);

дигомо-γ-линоленовая кислота (DGLA, 20:3 Ω6);

арахидоновая кислота (ARA, 20:3 Ω6) и

эйкозапентаеновая кислота (EPA, 20:5 Ω3).

В предпочтительном воплощении липид содержит по меньшей мере одну ПНЖК (например, ARA или DHA) в концентрации по меньшей мере 5 мас.%, например по меньшей мере 10 мас.%, например по меньшей мере 20 мас.% (относительно массы липида).

ПНЖК может находиться в форме (моно-, ди- или три)глицерида, фосфолипида, свободной жирной кислоты, эфира жирной кислоты (например, метилового или этилового эфира) и/или их сочетаний. Предпочтительно получают липид, в котором по меньшей мере 50% всех ПНЖК находятся в форме триглицеридов.

Липид может представлять собой масло или жир, например масло, содержащее ПНЖК. Предпочтительные воплощения для липидов применяют к маслу или жиру с соответствующими изменениями.

Клетки могут представлять собой любые клетки, содержащие липид. Клетки могут быть любого подходящего происхождения. Клетки могут представлять собой, например, клетки растений, например клетки из семян, или клетки микроорганизмов (микробные клетки). Примерами микробных клеток являются дрожжевые клетки, бактериальные клетки, клетки грибов и клетки водорослей. Грибы являются предпочтительными, предпочтительно отряда Mucorales, например, Mortierella, Phycomyces, Blakeslea, Aspergillus, Thraustochytrium, Pythium или Enthomophthora. Предпочтительным источником арахидоновой кислоты (ARA) являются Mortierella alpina, Blakeslea trispora, Nitszchia или Crypthecodinium (например, Crypthecodinium cohnii). Дрожжи включают дрожжи рода Pichia или Saccharomyces, такие как Pichia ciferii. Бактерии могут быть рода Propionibacterium. Примерами клеток растений, содержащих липид, являются клетки из соевых бобов, семян рапса, канолы, подсолнечника, кокосового ореха, льна и семян пальмы. В воплощении изобретения клетки представляют собой клетки растений, содержащие липид, который содержит ARA.

В воплощении изобретения клетки получают ферментацией. Подходящие способы ферментации известны специалистам и представляют собой, например, способы, описанные в WO-A-9737032. Предпочтительно, клетки, полученные ферментацией, обрабатывают при нагревании или пастеризуют.

В предпочтительном воплощении способ по изобретению включает одну или несколько стадий, предшествующих контактированию композиции с осушителем: (i) термообработку или пастеризацию клеток; (ii) отделение воды от клеток механической сепарацией; (iii) промывку клеток и (iv) отжим клеток.

Термообработку или пастеризацию можно осуществить при температуре от 65 до 120°С. Можно инактивировать или денатурировать ферменты, такие как липазы и/или липоксигеназы.

Отделение воды от клеток механической сепарацией можно успешно использовать для получения предпочтительных показателей содержания воды и/или содержания сухого вещества, как обсуждалось в данном описании выше. Механическая сепарация может включать, например, фильтрацию, центрифугирование, отжим, седиментацию или применение гидроциклона.

Затем липид можно обработать любым подходящим способом. Если липид извлекают экстракцией растворителем, его можно получить из растворителя выпариванием растворителя.

Липид, полученный, или который можно получить, способом по изобретению, можно подвергнуть дальнейшей обработке, например обработке кислотой (также называемой дегуммированием), щелочной обработке (также называемой нейтрализацией), отбеливанию, дезодорации, охлаждению (также называемому вымораживанию).

Липид, полученный, или который можно получить, способом по изобретению, имеет множество применений. Его можно использовать, например, для получения пищевого продукта, например пищевого продукта для людей (например, детского питания) или корма для животных. Его также можно использовать для получения фармацевтического продукта или косметического продукта. Соответственно, изобре-

тение также относится к пищевому продукту (например, обогащенному продукту или биологически активной добавке к пище), например пищевому продукту для людей (например, детскому питанию) или корму для животных, фармацевтическому продукту, косметическому продукту, содержащему липид, полученный, или который можно получить, способом по изобретению.

Далее изобретение будет поясняться с обращением к приведенным далее примерам, однако, без ограничения приведенными примерами.

Примеры

Эксперимент для сравнения А.

Культуральную жидкость, содержащую ARA, получают ферментацией Mortierella alpina в условиях, раскрытых в WO-A-9736996, страница 45, и затем пастеризуют при 65°С в течение одного часа. Бульон фильтруют с использованием ленточного фильтра, фильтровальный осадок промывают водой для удаления оставшихся компонентов среды и отжимают. Содержание воды в отжатом фильтровальном осадке составляет 60,7 мас.%. Содержание сухого вещества (клетки, включая масло в клетках) составляет 39,3%. Отжатый фильтровальный осадок экструдируют так, как описано в WO-A-9736996, и затем сушат до содержания сухого вещества 94 мас.% с использованием сушилки с кипящим слоем.

Экстракцию осуществляют следующим образом. На первой стадии экстракции 100 г сырого продукта, полученного так, как описано выше, добавляют к 300 мл химически чистого н-гексана и перемешивают магнитной мешалкой при комнатной температуре (20°С) в течение одного часа. После первой стадии экстракции жидкую фазу (содержащую масло, растворенное в гексане) декантируют с твердого вещества (содержащего клетки). На второй стадии экстракции оставшееся твердое вещество добавляют к 250 мл н-гексана и перемешивают в течение 30 мин. После второй стадии экстракции жидкую фазу (содержащую масло, растворенное в гексане) отделяют от твердого вещества фильтрацией под вакуумом. Жидкие фазы с первой и второй стадий экстракции объединяют, после чего гексан выпаривают с использованием роторного испарителя Rotavapor®, полученного от Büchi, Швейцария. Операцию выполняют при 68°С и давлении от 100 до 400 мбар в течение 30 мин.

Для цели данной заявки на патент выход (ARA-содержащего масла) в примере для сравнения А принимают за 100%. Выходы, полученные в последующих экспериментах, приводят по сравнению с выходом в примере для сравнения А.

Ссылочный эксперимент В.

Повторяют пример для сравнения А с тем отличием, что не проводят экструзию или сушку. Смесь экстрагируют с использованием такой же процедуры, какая описана в примере для сравнения А. Выход составляет 29,68%.

Пример 1.

Повторяют ссылочный эксперимент В с тем отличием, что 82 мас.ч. отжатого фильтровального осадка измельчают и смешивают с 18 мас.ч. диоксида кремния (SIPERNATD 22, полученного от Degussa AG, Германия) в смесителе с высоким сдвиговым усилием Hobart. Экстракцию осуществляют таким же способом. Выход составляет 84,68%, что на 55% больше по сравнению со ссылочным экспериментом, в котором осушитель не использовался.

Пример 2.

Повторяют пример 1 с тем отличием, что количество диоксида кремния повышают от 18 мас.ч. до 25 мас.ч. Это приводит к дальнейшему увеличению выхода (на 4,8%) до величины 89,48%.

Пример 3.

Повторяют пример 2 с тем отличием, что количество диоксида кремния повышают от 25 мас.ч. до 35 мас.ч. Это приводит к дальнейшему увеличению выхода на 7,53% до величины 97,01%.

Общий обзор примеров 1, 2 и 3 и экспериментов А и В приводится в табл. 1. Данная таблица показывает, что применение осушителя приводит к возрастанию выхода при экстракции и что выход при экстракции возрастает с возрастанием количества используемого осушителя. Это позволяет получить оптимальные выходы при экстракции путем изменения количества используемого диоксида кремния. Эксперименты показывают, что фактически такой же выход можно получить с использованием осушителя согласно изобретению и что экструзия и сушка устраняются.

Таблица 1. Выход, полученный способом по изобретению в сравнении с выходом в экспериментах А и В

Пр. №	Осадок (мас.%)	Диоксид кремния (мас.%)	Выход
Пр. для сравн. А	Экструзия и сушка		100
Ссыл. пр. В	100	0	29,68
Пример 1	82	18	84,68
Пример 2	75	25	89,48
Пример 3	65	35	97,01

Липид, полученный способом по изобретению, и липид, полученный способом, включающим экструзию и сушку, имеют фактически одинаковый состав, см. табл. 2.

Пример 4.

Отжатый фильтровальный осадок (Mortierella alpina) с содержанием сухого вещества 45,6% полу-

чают так, как описано в предыдущих примерах. Смешивают 50 г полученного осадка с 5 г полиакрилатного суперабсорбента (Luquasorb® FP 800, получен от BASF, Германия). Полученную смесь экстрагируют 250 мл гексана при перемешивании. Количество экстрагированного ARA-содержащего масла определяют после 7-часовой экстракции (после выпаривания гексана) и находят, что оно составляет 7,8 г.

Пример 5.

Повторяют пример 4 с тем отличием, что вместо 5 г полиакрилата используют 10 г осушителя диоксида кремния (SEPERNAT® 22, получен от Degussa AG, Германия). После 7-часовой экстракции количество экстрагированного ARA-содержащего масла составляет 7,8 г.

Осуществление экстракции в примерах 4 и 5 с использованием высушенных экструдатов, как раскрывается в WO-A-9736996 (в отсутствие осушителя), приводит к количеству экстрагированного масла от 7,65 г до 8,1 г.

Ясно видно, что используя осушитель согласно изобретению, можно получить такой же выход в отсутствие необходимости в грануляции/экструзии и/или сушке выпариванием.

Таблица 2. Состав липида (масла), полученного способом по изобретению, в сравнении с липидами по экспериментам A, B

	Изобретение (примеры 1-3, но с 20 массовыми частями диоксида кремния)	Пример для сравнения A (экструзия + сушка)
ARA (кг/кг)	404,5	421,5
ARA, % от всех жирных кислот	46,4	46,8
Полимеры	0,6	0,5
Триглицериды	91.9	92,2
Диглицериды	5,5	5,4
Стерины	2	2
C 14:0	0,6	0,6
C 16:0	13,1	13,1
C 17:0	0,4	0,4
C 18:0	9,3	9,4
C 18:1w9c	8,5	8,4
C 18:1w7c	0,5	0,4
C 18:2w6	7,6	7,4
C 20:0	0,9	0,9
C 18:3w6	3,9	3,8
C 20:1w9	0,3	0,3
C 20:2	0,7	0,7
C 22:2	1,6	1,6
C 20:3w6	4,7	4,7
C 24:0	1,5	1,6

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ получения липида из композиции, содержащей клетки и воду, включающий:

(a) контактирование композиции с осушителем и

(b) извлечение липида из клеток.

2. Способ по п.1, где осушитель имеет абсорбционную способность по меньшей мере 50 г воды на 100 г осушителя.

3. Способ по п.2, где осушитель является пористым.

4. Способ по любому из предшествующих пунктов, где осушитель имеет площадь удельной поверхности по меньшей мере 25 $м^2/г$.

5. Способ по любому из предшествующих пунктов, где осушитель выбирают из числа диоксида кремния, активированного угля, активированного оксида алюминия, молекулярных сит (например, углеродных молекулярных сит или цеолита) или сшитого полимера (например, полиакрилата).

6. Способ по любому из предшествующих пунктов, где осушителем является диоксид кремния.

7. Способ по любому из предшествующих пунктов, где

$$W_{осущ}/(W_{клеток(a)} + W_{в(a)}) > (1/x)\cdot(1 - W_{клеток(a)}/(0{,}8\cdot(W_{клеток(a)} + W_{в(a)})))$$

где $W_{осущ}$ - масса осушителя, который вводят в контакт с композицией на (a);

$W_{клеток\ (a)}$ - масса сухого вещества клеток в композиции, которую вводят в контакт с осушителем на (a);

$W_{B(a)}$ - масса воды в композиции, которую вводят в контакт с осушителем на (a);

x - абсорбционная способность осушителя.

8. Способ по любому из предшествующих пунктов, включающий получение клеток ферментацией.

9. Способ по любому из предшествующих пунктов, где композиция, которую вводят в контакт с осушителем на (a), представляет собой культуральную среду или где композицию, которую вводят в контакт с осушителем на (a), получают отделением воды от культуральной среды, например, механической сепарацией.

10. Способ по любому из предшествующих пунктов, где композиция, которую вводят в контакт с осушителем на (a), имеет содержание воды от 5 до 95 мас.%.

11. Способ по любому из предшествующих пунктов, где (a) включает смешивание композиции с осушителем с образованием смеси, содержащей клетки и осушитель; и где (b) включает извлечение липида из смеси, необязательно, в присутствии по меньшей мере части осушителя.

12. Способ по п.11, включающий по меньшей мере одно из следующих положений:

(i) отделение по меньшей мере части осушителя от смеси и/или

(ii) $w_{в(b)}/w_{клеток(b)} > 0{,}5 \cdot w_{в(a)}/w_{клеток\ (a)}$,

где $W_{B(b)}$ - масса воды в смеси, из которой извлекают липид на (b);

$W_{клеток\ (b)}$ - масса сухого вещества клеток в смеси, из которой извлекают липид на (b);

$W_{B(a)}$ - масса воды в композиции, которую вводят в контакт с осушителем на (a);

$W_{клеток\ (a)}$ - масса сухого вещества клеток в композиции, которую вводят в контакт с осушителем на (a).

13. Способ по любому из предшествующих пунктов, где (b) включает извлечение липида экстракцией растворителем.

14. Способ по любому из предшествующих пунктов, где растворитель представляет собой неполярный растворитель, например C_{3-6}-алкан, предпочтительно гексан.

15. Способ по любому из предшествующих пунктов, где растворитель представляет собой сверхкритическую жидкость, например жидкий CO_2 или пропан в сверхкритическом состоянии.

16. Способ по любому из предшествующих пунктов, не включающий после (a) и перед (b) стадию сушки, которая включает нагревание клеток; и/или грануляцию клеток для получения гранулированных частиц.

17. Способ по любому из предшествующих пунктов, где клетки представляют собой микробные клетки, например, дрожжевые клетки, бактериальные клетки, клетки грибов или клетки водорослей.

18. Способ по любому из предшествующих пунктов, где клетки представляют собой клетки из рода Mortierella или из числа Pythium или Enthomophthora.

19. Способ по любому из предшествующих пунктов, где клетки представляют собой клетки из рода Crypthecodinium или из подкласса Thraustochytriales, например из рода Thraustochytrium или Schizochytrium.

20. Способ по любому из предшествующих пунктов, где клетки представляют собой клетки растений, например, семян или орехов.

21. Способ по любому из предшествующих пунктов, где указанный липид содержит полиненасыщенную жирную кислоту (ПНЖК), например Ω-3 ПНЖК или Ω-6 ПНЖК.

22. Способ по любому из предшествующих пунктов, где указанная ПНЖК представляет собой ПНЖК с по меньшей мере 18 атомами углерода.

23. Способ по любому из предшествующих пунктов, где указанная ПНЖК представляет собой арахидоновую кислоту (ARA).

24. Способ по любому из предшествующих пунктов, где указанная ПНЖК представляет собой докозагексаеновую кислоту (DHA).

25. Способ по любому из предшествующих пунктов, где указанный липид содержит по меньшей мере 5 мас.% указанной ПНЖК.

26. Способ по любому из предшествующих пунктов, где указанный липид содержит одно или несколько соединений из числа следующих соединений: липстатин, статин, TAPS, пимарицин, нистатин, жирорастворимый антибиотик (например, ладиомицин), жирорастворимый антиоксидант (например, коэнзим Q10), холестерин, фитостерин, десмостерин, токотренол, токоферол, каротиноид или ксантофиллы, например бета-каротин, лютеин, ликопен, астаксантин, зеаксантин или кантаксантин.

Евразийская патентная организация, ЕАПВ
Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2