



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **62564** (13) **U**
(51) МПК (2011.01)
C12N 1/20 (2006.01)
C12R 1/07 (2006.01)
C12P 21/00
C02F 3/34 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) ШТАМ БАКТЕРІЙ *BACILLUS SP.* BC-1 - ПРОДУЦЕНТ КОМПЛЕКСУ ПРОТЕОЛІТИЧНИХ ФЕРМЕНТІВ

1

2

(21) а201013275
(22) 08.11.2010
(24) 12.09.2011
(46) 12.09.2011, Бюл.№ 17, 2011 р.

(72) БІЛОУСОВ ІГОР ВАДИМОВИЧ
(73) БІЛОУСОВ ІГОР ВАДИМОВИЧ
(57) Штам бактерій *Bacillus sp.* BC-1 IMB B-7304 -
продуцент комплексу протеолітичних ферментів.

Корисна модель належить до біотехнології, зокрема до виробництва комплексних ферментних препаратів, що використовуються для переробки складних органічних забруднень стічних вод підприємств харчової та переробної промисловості, сільського господарства, септиків та вигрібних ям комунальної власності та на присадибних ділянках.

Задача корисної моделі: селекція нового штаму - продуценту, що ефективно руйнує складні білкові сполуки, здатного швидко рости на мінеральних середовищах з концентрованими органічними відходами, якому притаманна стабільність процесу біосинтезу ферментів, як в лабораторних, так і в промислових умовах.

Штам бактерій *Bacillus sp.* BC-1 виділений із зразків активного мулу, відібраного на станції по очищенню побутових стічних вод м. Києва у с.м.т. Бортничі, і селекціонований у відділі фізіології промислових мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К.Заболотного (1МВ) НАН України.

Штам депонований у Депозитарії мікроорганізмів 1МВ НАН України і йому привласнено колекційний номер *Bacillus sp.* BC-1 IMB B-7304.

Основною особливістю штаму є його висока протеолітична активність та його здатність рости на мінімальних поживних середовищах.

Штам бактерій *Bacillus sp.* BC-1 IMB B-7304 активно деструє білки тваринного та рослинного походження і придатний для застосування в складі консорціуму мікроорганізмів для очищення промислових і побутових стічних вод.

Корисна модель відноситься до біотехнології, зокрема до біотехнологічного очищення промис-

лових та побутових стічних вод, і являє собою новий штам продуцент комплексу протеолітичних ферментів.

Штам бактерій *Bacillus sp.* BC-1 виділений із зразків активного мулу станції по очищенню побутових стічних вод м. Києва у с.м.т. Бортничі на м'ясопелтонному бульйоні методом накопичувальних культур. Штам ідентифіковано відповідно до визначника Бергі, йому надано номер BC-1.

В Депозитарії Української колекції мікроорганізмів 1МВ НАН України надано номер 1МВ B-7304.

Культурально-морфологічні та фізіолого-біохімічні особливості штаму *Bacillus sp.* BC-1 Грам позитивні рухливі палички, які не роздуваються при споруутворенні, з центрально або субтермінально розміщеними спорами. На агаризованому картопляно-мінеральному середовищі при температурі 25-34 °С утворюють слизові блискучі колонії, випуклі, які з віком перетворюються на складчасті, матові з випуклим центром. На МПА колонії опуклі, блискучі дисоціюють на S- та R- форми. Ростуть при 7 % NaCl, не утворюють кислоти при вирощуванні в молоці з лакмусом, ростуть при pH 5,7, продукують ацетоін на середовищі Кларка, гідролізують крохмаль, відновлюють нітрати. Найбільш близьким до заявляемого об'єкту є штам продуцент β-глюканази [авт. св. СССР N 1507793, кл. С 12 N 9/42, 1991]. Від штама найближчого аналога штам, що заявляється, відрізняється невибагливістю до складу середовища, здатністю рости при високих концентраціях органічних речовин, незалежністю інтенсивності синтезу протеолітичних ферментів від умов культивування. Активність протеаз в культуральній рідині в колбах, складала 34,2 ед/мл, а в ферментері 36,8 ед/мл).

(19) **UA** (11) **62564** (13) **U**

Приклад 1. Штам *Bacillus* sp. BC-1 вирощували в колбах Ерленмейєра об'ємом 750мл, з об'ємом середовища 100 мл при температурі 28 °С протягом 48 годин на МПБ, простерилізованого при 1 атм, розведеного в 10 разів. Посівний матеріал - суспензія клітин бактерій, змитих з поверхні агаризованого середовища., 2 % від об'єму середовища. Число обертів качалки - 240 об/хв. Посів вирощеної культури на м'ясо-пептонну желатину повністю розріджував її за 16-18 годин.

Протезна активність культуральної рідини складала: протеаза нейтральна 1 од/мл; протеаза лужна 490 од/мл; протеаза кисла - 5 од/мл. Мікроскопічне вивчення культури під час культивування показало нормальну без патології морфологію клітин.

Приклад 2 Штам *Bacillus* sp. BC-1 вирощували на ферментері об'ємом 10 л, при температурі 28 °С протягом 48 годин на МПБ, простерилізованого при 1 атм, розведеного в 10 разів. Посівний матеріал - суспензія клітин бактерій, змитих з поверхні агаризованого середовища., 2 % від об'єму середовища. Число обертів лопастей - 220 об/хв. з піногасінням стерильною оливковою олівою та аерацією стерильним повітрям один об'єм повітря на один об'єм культуральної рідини. Тривалість культивування 36 годин. При температурі 28 °С. Культуральна рідина мала такі ферментативні властивості:

час повного розрідження желатини -18 годин; протеаза нейтральна 2 од/мл, протеаза лужна 540 од/мл, протеаза кисла 4,0 од/мл. Мікроскопічне вивчення культури під час культивування показало нормальну без патології морфологію клітин. Приклад 3. Штам *Bacillus* sp. BC-1 вирощували на ферментері об'ємом 10 л, при температурі 28 °С протягом 24 годин на МПБ, простерилізованого при 1 атм, розведеного в 10 разів. Посівний матеріал - суспензія клітин бактерій, змитих з поверхні агаризованого середовища., 2 % від об'єму середовища. Число обертів лопастей - 220 об/хв. з піногасінням стерильною оливковою олівою та аерацією стерильним повітрям один об'єм повітря на один об'єм культуральної рідини. При температурі 28 °С. Культуральна рідина мала такі ферментативні властивості: час повного розрідження желатини -18 годин; протеаза нейтральна 2 од/мл, протеаза лужна 520 од/мл, протеаза кисла 3,0 од/мл. Мікроскопічне вивчення культури під час культивування показало нормальну без патології морфологію. Протеазу нейтральну, лужну та кислу визначали по ГОСТ 202.662-74 "Препараты ферментные". Желатиназну активність визначали згідно визначенню протеолітичної активності (Большой практикум по микробиологии под.ред.Селибера... М., "Высшая школа"-1962.-490 с.).