

Изобретение относится к микробиологической промышленности в частности к микробиологическому синтезу L-глутаминовой кислоты.

Известен способ уменьшения содержания биотина в культуральной жидкости и оптимизации условий культивирования путем применения поверхностно-активных веществ, например, твина-40, 60 (Микробиологическая промышленность. Реферативный сборник. - Вып.8 (92), 1972. - С.22 - 30). Процесс протекает следующим образом: к культуральной жидкости, состоящей из мелассы, источников азота и минеральных солей, добавляют через 5ч после начала ферментации моноэфир пальмитиновой кислоты и полиоксидилен в концентрации 0,1г/дм<sup>3</sup>. Ферментацию ведут 55 - 60ч, после чего добавляют лауриламид или стеариламид в концентрации 0,025г/дм<sup>3</sup>. Выход глутаминовой кислоты на свекловичной мелассе составил 26г/дм<sup>3</sup>.

Наиболее близким к предлагаемому по технической сущности и достигаемому результату является способ приготовления питательных сред, включающий приготовление мелассного сусла, извлечение биотина активированным углем или ионообменной смолой, обогащение минеральными солями, стерилизацию, охлаждение, выращивание продуцента и ферментацию. В результате такого способа достигается снижение содержания биотина в разной степени для разных меласс. Разная степень удаления биотина обусловила различное накопление глутаминовой кислоты на обработанных средах (Балицкая Р.М. и др. Питательные среды для биосинтеза глутаминовой кислоты культурой *Micrococcus glutamicus* // Прикладная биохимия и микробиология. - Т.V. - 1969. - Вып.1. - С.12 - 18).

Причиной, препятствующей увеличению выхода глутаминовой кислоты при культивировании *Corynebacterium glutamicum* на мелассных средах, является недостаточное извлечение биотина, содержание которого должно быть не более 5мкг/л культуральной жидкости.

Задачей изобретения является усовершенствование известного способа подготовки питательной среды для биосинтеза L-глутаминовой кислоты путем оптимизации мелассного сусла по содержанию биотина и повышения за счет этого проницаемости бактериальной клетки для глутаминовой кислоты. Техническим результатом использования предлагаемого изобретения является повышение биосинтетической активности культуры для счет устранения ингибирования синтеза повышенным содержанием биотина.

Потребительские свойства объекта изобретения, связанные с техническим результатом, - повышение выхода глутаминовой кислоты, коэффициента использования источника углерода и снижение за счет этого себестоимости целевого продукта.

Достигается этот технический результат тем, что в известном способе подготовки питательной среды для биосинтеза L-глутаминовой кислоты, включающем разбавление мелассы водой, обработку сорбентом, обогащение минеральными солями, стерилизацию, охлаждение. Приготовленное мелассное сусло обрабатывают

карбоксиметилцеллюлозой в количестве 8 - 12г/л в течение одного часа с последующим ее отделением фильтрованием. Изучением влияния обработки мелассного сусла карбоксиметилцеллюлозой на выход глутаминовой кислоты установлено, что максимальный результат по ее выходу достигается при дозировке сорбента в заявляемых пределах. Увеличение и уменьшение дозировки сорбента ведет к существенному снижению синтеза глутаминовой кислоты.

Время обработки сусла, при котором достигается самый высокий коэффициент биоконверсии сахара в глутаминовую кислоту составляет один час. Увеличение времени обработки до 2 - х и 3 - х часов не дало положительных результатов.

В заявляемом техническом решении предложен неизвестный в микробиологии прием извлечения биотина из мелассного сусла карбоксилцеллюлозой. Глутаминовая кислота является вторичным метаболитом и ее синтез только частично связан с ростом биомассы. В этой связи биотин оказывает неоднозначное влияние на процесс микробиосинтеза. На стадии выращивания культуры биотин стимулирует синтез биомассы, задерживая синтез глутаминовой кислоты. Снижение содержания биотина в период сверхсинтеза кислоты, вызывает увеличение мембранной проницаемости для глутаминовой кислоты и она не способна удерживаться в клетке (Перт. С.Дж. Основы культивирования микроорганизмов и клеток. - М.: Мир, 1978).

Предлагаемый способ осуществляют следующим образом. Мелассу разбавляют водой до содержания сахара 10 - 11%. В раствор добавляют карбоксиметилцеллюлозу в количестве 8 - 12г/л и выдерживают в течение одного часа при периодическом перемешивании. После этого раствор мелассы отделяют от карбоксиметилцеллюлозы фильтрованием, добавляют соли фосфорной кислоты, сернокислый магний и мочевины и подвергают стерилизации. После охлаждения раствор засевают культурой *Corynebacterium glutamicum* 3144 и ведут ферментацию в качалочных колбах при скорости вращения качалки 230об./минуту в течение 48 часов.

Пример. Мелассу разбавляют водой до содержания сахара 10%. В раствор вносят 10г/л карбоксиметилцеллюлозы, выдерживают в течение часа при периодическом перемешивании, отделяют карбоксиметилцеллюлозу от раствора фильтрованием, обогащают раствор минеральными солями и стерилизуют. После охлаждения раствор засевают культурой и ведут процесс биосинтеза при стандартных условиях.

Данные, характеризующие процесс ферментации по известному и предлагаемому способу, приведены в таблице.

Как видно из данных таблицы, предлагаемый способ приготовления питательной среды для получения L-глутаминовой кислоты позволяет повысить выход целевого продукта на 15% по отношению к известному способу. При этом снижается накопление бактериальной биомассы на 15,3%.

Обработка мелассного сусла карбоксиметилцеллюлозой позволяет оптимизировать содержание биотина и является

фактором повышения продуктивности микробного синтеза глутаминовой кислоты.

Таблица

Характеристика процесса	По известному способу	По предлагаемому способу		
		Дозировка карбоксиметилцеллюлозы, г/дм <sup>3</sup>		
		5	10	15
Исходное содержание сахара, %	9,7	9,3	8,9	8,5
Содержание биотина, мкг/дм <sup>3</sup>	26,0	15,4	5,8	3,6
рН культуральной жидкости	5,9	5,8	5,9	5,8
Биомасса по оптической плотности	26	24	22	18
Глутаминовая кислота, г/дм <sup>3</sup>	27,0	28,6	31,1	23,0
Остаточные углеводы, г/дм <sup>3</sup>	2,3	2,0	1,8	3,0
Степень конверсии сахара в глутаминовую кислоту, %	36,5	39,1	44,0	42,2