

Изобретение относится к области промышленной микробиологии и касается питательной среды для культивирования бактерий рода *Bacillus*.

Применяются полисахариды в пищевой промышленности, сельском хозяйстве, полиграфии, текстильной и парфюмерной промышленности и др. отраслях.

Для выращивания продуцентов полисахаридов *Bacillus polymyxa* ферментационный процесс должен быть обусловлен определенными параметрами: составом и pH питательной среды, продолжительностью культивирования и температурой.

Бактерии *Bacillus polymyxa* способны продуцировать экзополисахарид (ЭПС) на средах, содержащих различные углеводы: глюкозу, сахарозу, манозу, галактозу и другие.

Известна питательная среда Leach et al для выращивания бактерий рода *Xanthomonas* продуцентов полисахаридов, содержащая в качестве источника углеводов глюкозу 15 г, фосфат калия 1 г,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0,05 г,  $Na_2CO_3$  1,1 г, фумаровую кислоту 1,3 г,  $Fe_2(SO_4)_3$  0,2 мг,  $ZnSO_4$  0,2 мг,  $MnSO_4$  0,1 мг, дистиллированную воду на 1000 мл, а также препарат Stimuflav в качестве источника азота [Патент США №3020307, кл. 195-31, опубл. 1962].

Однако эта среда является дорогостоящей и сложной за счет внесения дополнительного источника азота и асептической подпитровки в процессе ферментации.

Наиболее близкой по совокупности признаков к предлагаемой питательной среде является среда для выращивания штамма *Xanthomonas campestris* 8162 – продуцента гетерополисахарида, содержащая углевод-содержащую среду – кормовую мелассу 1,5-2,5%, фумаровую кислоту 0,065-0,13%, как стимулятора биосинтеза и калий фосфорнокислый двузамещенный ( $K_2HPO_4$ ) 0,1-0,15% и воду. Среда агаризована [Авт.св. СССР №811844, опублик. 1980].

Выход полисахарида составляет 9,1-11 г/л.

Недостатком этой среды является невысокий выход экзополисахарида, окрашенность целевого продукта и использование дорогостоящей дефицитной фумаровой кислоты.

В основу изобретения поставлена задача разработать питательную среду для выращивания *Bacillus polymyxa* продуцента ЭПС с применением измельченных корнеплодов топинамбура, который содержит в своем составе углеводы, азотистые вещества, витамины, фумаровую кислоту, обеспечивающие стабильный рост продуцента и биосинтез экзополисахарида, что дает возможность снизить его себестоимость и увеличить выход целевого продукта.

Питательная среда для выращивания *Bacillus polymyxa* содержит углеводсодержащее сырье, калий фосфорнокислый двузамещенный, воду, среда стерилизована.

Согласно изобретению в качестве углеводсодержащего сырья используются измельченные корнеплоды топинамбура, среду готовят при следующем содержании компонентов, г/л:

Топинамбур	100-200
Калий фосфорнокислый двузамещенный	1,0-1,5
Вода	Остальное

В состав питательной среды для культивирования *Bacillus polymyxa* входят измельченные корнеплоды топинамбура. Химический состав корнеплодов топинамбура включает полный набор компонентов, обеспечивающий рост продуцента и биосинтез экзополисахарида, в том числе углеводы, фумаровую кислоту и другие вещества.

Химический состав корнеплодов топинамбура приведен в таблице

Из таблицы видно, что наряду с другими компонентами необходимыми для выращивания *Bacillus polymyxa* в топинамбуре имеется в достаточном количестве и фумаровая кислота, поэтому вводить ее как отдельный компонент нет необходимости.

Питательная среда для выращивания *Bacillus polymyxa* готовится из измельченных корнеплодов топинамбура в количестве 100-200 г/л, калия фосфорнокислого двузамещенного 1,0-1,5 г/л и воды. Среду стерилизуют при 0,5 атм в течение 20 минут. Посевной материал вносят из расчета 3% с принудительной аэрацией в течение 72 ч. Экзополisahарид осаждают тремя объемами этанола, очищают ацетоном и сушат на воздухе. Выход его составляет 14,0-25,0 г/л.

Примеры получения экзополисахарида.

Пример 1. Использовалась среда при следующем соотношении компонентов: Измельченный топинамбур 50 г/л,  $K_2HPO_4$  1,0 г/л. Засевали двухсуточной культурой. Инокулят вносили в количестве 3%, выращивали при температуре 28°C с принудительной аэрацией в течение 72 ч. Экзополisahарид осаждали тремя объемами этанола, очищали ацетоном, сушили на воздухе. Выход его составил 9,0 г/л.

Пример 2. Состав среды: измельченный топинамбур 100 г/л,  $K_2HPO_4$  1 г/л. Посевной материал вносили из расчета 3%, выращивали при температуре 28°C. Выращивали и осаждали экзополисахарид как в примере 1. Выход ЭПС составлял 14 г/л.

Пример 3. Состав среды: измельченный топинамбур 150 г/л,  $K_2HPO_4$  1 г/л. Культивирование и осаждение экзополисахарида осуществляли по примеру 1. Выход ЭПС составлял 19 г/л.

Пример 4. Состав среды: измельченный топинамбур 200 г/л,  $K_2HPO_4$  1 г/л. Выращивание и осаждение полисахарида осуществляли по примеру 1. Выход экзополисахарида составил 24,6 г/л.

Пример 5. Состав среды: измельченный топинамбур 250 г/л,  $K_2HPO_4$  1,0 г/л. Засевной материал вносили в количестве 3%. Осаждение проводили по примеру 1. Выход экзополисахарида составил 25 г/л.

Как видно из приведенных примеров, предлагаемая питательная среда обеспечивает высокий выход экзополисахарида. Накопление его изменяется в зависимости от количества внесенного в среду измельченного топинамбура.

В питательной среде, приготовленной с содержанием 200 г/л измельченного топинамбура, накопилось 24,6 г/л экзополисахарида.

Снижение его концентрации в среде до 50 г/л привело к уменьшению накопления экзополисахарида до

9,0 г/л, а увеличение концентрации измельченного топинамбура до 250 г/л не дало ощутимых результатов в накоплении целевого продукта, что видно из примера 5.

Таким образом, для культивирования бактерий *Bacillus pumilus* и биосинтеза экзополисахарида, оптимальной концентрацией измельченного топинамбура в питательной среде является 100-200 г/л.

Состав	Содержание веществ, %
Вода	78,7
Общее количество сухих веществ	21,3
Азотистые вещества	4,9
Белки	1,21
Пектиновые вещества	0,60
Углеводы	18-25
Минеральные вещества	8,0-11,5
Органические кислоты в пересчете на яблочную	4-8
в том числе фумаровая	2,5
Витамины	142,0 мкг