



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **15840** (13) **U**  
(51) МПК (2006)  
A21C 1/00МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ**ОПИС****ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ  
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**видається під  
відповідальність  
власника  
патенту**(54) СПОСІБ СТИМУЛЯЦІЇ ПЕКТИНЕСТЕРАЗНОЇ АКТИВНОСТІ МІКРОМІЦЕТІВ**

1

2

(21) u200600909

(22) 01.02.2006

(24) 17.07.2006

(46) 17.07.2006, Бюл. № 7, 2006 р.

(72) Твердохліб Ірина Олексіївна, Пічко Вікторія Борисівна, Пирог Тетяна Павлівна, Айзенберг Вікторія Леонідівна, Захарченко Валентина Олексіївна, Капітон Ганна Павлівна, Григірчак Наталія Миколаївна

(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ

## ТЕХНОЛОГІЙ

(57) Спосіб стимуляції пектиностеразної активності мікроміцетів, що передбачає обробку електромагнітним полем з індукцією 0,1 Тл, частотою 50 Гц посівного матеріалу мікроорганізмів, який **відрізняється** тим, що обробці піддають посівний матеріал мікроміцетів, відібраних за здатністю до синтезу позаклітинної пектиностерази, а тривалість обробки складає 9-11 хв.

Корисна модель відноситься до біотехнології, а саме до розробки способів підвищення продуктивності мікроорганізмів - продуцентів ферментних препаратів - за рахунок стимуляції їх біосинтетичної активності і може застосовуватись на біотехнологічних підприємствах по випуску ферментних препаратів.

Рівень рентабельності виробництва ферментних препаратів забезпечується багатьма факторами. Один з найважливіших - наявність штамів мікроорганізмів з високою біосинтетичною активністю.

Грибна пектиностераза - фермент промислового значення, необхідний при створенні екологічно чистої технології отримання пектину з високою комплексоутворюючою здатністю та лікувально-профілактичними властивостями.

Багаточисельні дослідження свідчать, що різноманітні фізико-хімічні фактори здатні певним чином впливати на метаболічні процеси мікроорганізмів, створюючи як стимулюючу, так і інгібуючу дію на біосинтетичну активність клітини. Серед таких взаємодій особливе місце займає група електромагнітних факторів різноманітних характеристик. Характер електромагнітної дії специфічний для кожної груп мікроорганізмів.

Відомі дані про способи стимуляції і уповільнення біохімічних процесів, що відбуваються за рахунок електромагнітної дії [Патент Российской Федерации №2144563 с1, Кл. С12N 13/00; С12M 1/42; В011 19/08, опубл. 20.01.2000. Подгорский В.С., Бойчук С.И., Громозова Е.Н., Гордиенко А.С.

Протекторное действие электромагнитного излучения (40, 68МГц) на *Saccharomyces cerevisiae* УКМ У-517. Микробиологический журнал, 2004, т. 66, №5, с. 48-56]. При цьому поряд з різними факторами передобробки мікроорганізмів найважливішого значення набуває її тривалість, яка відіграє як стимулюючу, так і інгібуючу роль.

У відомому способі активації дріжджів, що включає обробку посівного матеріалу електромагнітним полем складної конфігурації, позитивний ефект досягається тільки при певній тривалості дії, а саме - 20-30 сек. [Спосіб активації дріжджів. Капліна Т.В., Лісюк Г.М., Шеляков О.П., Дорохіна М.О. Деклараційний патент України №28292 А, кл. 6 С12N 1/00, А21В 13/00, опубл. 16.10.2000, бюл. №5].

В наведених аналогах йдеться про стимуляцію (за допомогою обробки посівного матеріалу електромагнітним полем) зимазної, мальтозної активності для інтенсифікації процесу бродіння у дріжджів [Спосіб активації дріжджів. Капліна Т.В., Лісюк Г.М., Шеляков О.П., Дорохіна М.О. Деклараційний патент України №28292 А, кл. 6 С12N 1/00, А21В 13/00, опубл. 16.10.2000, бюл. №5] та про підвищення активності внутрішньоклітинних ферментів деїдрогеназного комплексу у дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* при дії електромагнітного випромінювання радіочастотного діапазону Подгорский В.С., Бойчук С.И., Громозова Е.Н., Гордиенко А.С. Протекторное действие электромагнитного излучения (40, 68МГц) на *Saccharomyces cerevisiae* УКМ У-517. Микробиологи-

(19) **UA** (11) **15840** (13) **U**

чний журнал, 2004, т.66, №5, с. 48-56].

Найбільш близьким до способу, що заявляється, є спосіб активації хлібопекарських дріжджів за рахунок збільшення активності  $\beta$ -фруктофуранозидази, який базується на ефекті впливу електромагнітного поля складної конфігурації [Способ активации хлебопекарных дрожжей. Пичко В.Б., Ельчиц С.В., Поваляева И.В., Попов В.С., Баранник А.М., Пивовар В.Д. Авт. Св-во СССР №1592328 А1, кл. C12N 1/18; 13/00; C12R 18/65, опубл. 15.09.1990, Бюл. №34].

Спосіб активації внутрішньоклітинного ферменту  $\beta$ -фруктофуранозидази дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* полягає в тому, що суспензію клітин дріжджів обробляють зустрічно-направленим електромагнітним полем з індукцією 0,1Тл, частотою 50Гц протягом 18-23хв. При цьому активація  $\beta$ -фруктофуранозидази складає 28-31%. Однак, скорочення тривалості обробки суспензії дріжджів до 15хв. не призводить до активації внаслідок недостатності дози, а збільшення тривалості обробки понад 23хв. призводить до втрати активуючого ефекту.

Недоліком вказаного способу є те, що наведений спосіб стосується активуючої дії електромагнітного поля тільки по відношенню до дріжджів і не поширюється на інші мікроорганізми, зокрема на гриби-мікроміцети.

В основу корисної моделі поставлена задача застосування відомого способу активації хлібопекарських дріжджів до мікроміцетів, здатних до синтезу позаклітинної пектиностерази, та вдосконалення відомого способу шляхом зміни параметрів обробки електромагнітним полем для забезпечення підвищення пектиностеразної активності мікроміцетів на 25-40%.

Поставлена задача вирішується тим, що спосіб передбачає обробку електромагнітним полем з індукцією 0,1Тл, частотою 50Гц посівного матеріалу мікроорганізмів. Згідно корисної моделі, обробці піддають посівний матеріал мікроміцетів, відібраних за здатністю до синтезу позаклітинної пектиностерази, а тривалість обробки при цьому складає 9-11хв.

Для вивчення дії електромагнітного поля на пектиностеразну активність мікроміцетів, використовували штами грибів-мікроміцетів: *Penicillium sp.8H*, *Penicillium funiculosum* IMB F-100039.

Обробці електромагнітним полем піддають посівний матеріал мікроміцетів, відібраних за здатністю до синтезу позаклітинної пектиностерази. Оптимальна тривалість обробки посівного матеріалу мікроміцетів становить 9-11хв., що дає можливість підвищити їхню пектиностеразну активність на 25-40%. Скорочення тривалості обробки до 5хв. не призводить до активації внаслідок недостатності дози, а збільшення тривалості обробки понад 12хв. призводить до підвищення пектиностеразної активності мікроміцетів лише на 12-30% внаслідок втрати активуючого ефекту. Суть корисної моделі, який заявляється, пояснюється прикладами конкретного виконання.

Приклад 1. Пробірки з посівним матеріалом мікроміцета *Penicillium sp.8H*, вирощеного на сушловому агарі, обробляють електромагнітним полем

з індукцією 0,1Тл і частотою 50Гц. Час обробки становить 5-11хв. З обробленого електромагнітним полем посівного матеріалу готують в стерильній водопровідній воді суспензію спор з вмістом конідій  $2 \times 10^6$  в 1мл. Отриману суспензію використовують для приготування інокулюму. Для отримання інокулюму готують поживне середовище складом, %:

амоній азотнокислий	0,3,
калій фосфорнокислий однозаміщений	0,1;
магній сірчанокислий	0,05;
буряковий жом	2,0;
вода водопровідна (рН середовища 4,2-4,5).	100мл;

Інокулюм вирощують глибинним способом при 26-28°C в колбах об'ємом 750мл зі 150мл поживного середовища на обертівій качалці з 180-200об/хв. протягом 24 год.

Ферментаційне середовище складу, аналогічного для приготування інокулюму, засівають вирощеним інокулюмом в кількості 10% до об'єму середовища. Процес ферментації триває 48 год. В контролі пробірки і посівним матеріалом мікроміцета не піддають обробці електромагнітним полем.

Активність пектиностерази культуральної рідини мікроміцета після процесу ферментації, визначена в стандартних умовах проведення реакції при рН 4,0 і температурі 30°C, складає 3,0-4,2од/мл (в контролі - 3,0од/мл).

При цьому стимуляція активності пектиностерази при обробці посівного матеріалу мікроміцета електромагнітним полем на протязі 9-11хв. складає 40% в порівнянні з контролем. Обробка посівного матеріалу мікроміцета на протязі 5хв. не призводить до стимуляції пектиностеразної активності, яка залишається на рівні 3,0од/мл, як і в контролі.

Приклад 2. Приготування посівного матеріалу мікроміцета, інокулюму та процес ферментації здійснюють аналогічно до описаного в Прикладі 1. Час обробки посівного матеріалу електромагнітним полем становить 12хв. В контролі пробірки з посівним матеріалом мікроміцета не піддають обробці електромагнітним полем.

Активність пектиностерази культуральної рідини мікроміцета, посівний матеріал якого піддавали обробці електромагнітним полем на протязі 12хв., визначена після закінчення процесу ферментації в стандартних умовах проведення реакції при рН 4,0 і температурі 30°C і становить 3,9од/мл (в контролі - 3,0од/мл). При цьому активуючий ефект електромагнітного поля на посівний матеріал мікроміцета знижується і активність пектиностерази при цьому підвищується лише на 30% в порівнянні з контролем.

Приклад 3. Спосіб стимуляції пектиностеразної активності застосовують аналогічно до описаних в Прикладах 1 та 2, але в якості продуцента позаклітинної пектиностерази використовують грибок-мікроміцет *Penicillium funiculosum* IMB F-100039, вирощений на картопляно-глюкозному агарі. Час обробки посівного матеріалу мікроміцета електромагнітним полем складає 5-12хв. Для вирощення інокулюму та проведення процесу фе-

рментації готують поживне середовище складом, %:

амоній сірчаноокислий	0,7;
калій фосфорнокислий одно заміщений	0,1;
магній сірчаноокислий	0,05;
буряковий жом	4,0;
кукурудзяний екстракт	0,5 мл;
вода водопровідна (рН середовища 4,0-4,2).	100мл;

При цьому пектинестеразна активність культуральної рідини після проведення процесу ферментації становить: при обробці посівного матеріалу на протязі 5хв. - 2,6од/мл; на протязі 9-11 хв. - 3,2од/мл; на протязі 12хв. - 2,9од/мл; в контролі - 2,6од/мл.

Обробка посівного матеріалу мікроміцета на

протязі 5хв. не призводить до стимуляції пектинестеразної активності, яка залишається на рівні 2,6од/мл, як і в контролі. Стимуляція активності пектинестерази при обробці посівного матеріалу мікроміцета електромагнітним полем на протязі 9-11хв. складає 25% в порівнянні з контролем. При обробці посівного матеріалу мікроміцета на протязі 12 хв. активуючий ефект електромагнітного поля знижується і активність пектинестерази при цьому підвищується лише на 12% в порівнянні з контролем.

Таким чином, запропонований спосіб в порівнянні з відомим дозволяє застосовувати обробку електромагнітним полем до мікроміцетів, здатних синтезувати позаклітинну пектинестеразу.

При цьому активність позаклітинної пектинестерази мікроміцетів підвищується на 25-40%.