



УКРАЇНА

(19) UA (11) 40900 (13) A

(51) 7 C12M1/04, C12M1/38

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВІНАХІДвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) ЛАБОРАТОРНА ФЕРМЕНТАЦІЙНА УСТАНОВКА ДЛЯ КУЛЬТИВУВАННЯ БАЗИДІОМІЦЕТІВ

(21) 2000105818

(22) 16.10.2000

(24) 15.08.2001

(46) 15.08.2001, Бюл. № 7, 2001 р.

(72) Негруцький Сергій Федорович, Бойко Михайло
Іванович, Федотов Олег Валерійович, Полях
Віктор Олександрович

(73) ДОНЕЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

(57) Лабораторна ферментаційна установка для
культивування базидіоміцетів, що містить
біологічний реактор, яка відрізняється тим, що

установка включає два біореактори, підключених паралельно через обв'язку до автоклава, компресора, термостатів, водонагрівача, блоки автоматичного управління роботою мішалки, блок автоматичного управління роботою компресора, датчик кисню, що герметично вставлений у біореактор, контактні термометри, що регулюють роботу термостатів та обв'язку, яка містить вентилі, клапани, ротаметри, обернені клапани та бактеріальні повітряні фільтри, з'єднані між собою магістралями.

Винахід відноситься до мікробіологічної промисловості, а саме до пристроїв для культивування соматичних структур базидіоміцетів. Лабораторна ферментаційна установка з біологічними реакторами "Біор - 0,1" і "Біор - 0,25" може бути використана для поверхневого і глибинного культивування вищих базидіоміцетів (макроміцетів) - продуцентів біологічно активних речовин, зокрема молокозсідальних ферментів, в асептичних умовах напівпромислового експериментального виробництва для харчової, медичної і хімічної промисловостей.

Умовою розвитку біотехнології біологічно активних речовин є подальший пошук нових нетрадиційних біологічних об'єктів, що мають цінні виробничі властивості. Перспективним є використання вищих базидіоміцетів у мікробіологічній промисловості [3-5,8]. Одним з важливих етапів розробки технології ферментації є експериментальні напівпромислові випробування штамів-продуцентів. Тому набуває актуальності питання монтажу досконалих лабораторних ферментаційних установок [1, 2, 6, 7].

Відомий апарат для культивування мікроорганізмів, що складається з ферментатора і розміщених в ньому інокулятора та посівного приладу [1]. Недоліком апарату є наявність великої кількості запірної арматури, устаткування для прокачування середовища, що значно збільшує ймовірність зараження культури мікроорганізму сторонньою мікрофлорою та інактивації продуцента. Апарат придатний до культивування лише одноклітинних мікроорганізмів, що не влаштовує вимоги до вирощування макроміцетів.

Запропонований спосіб культивування мікроорганізмів та апарат для його здійснення відрізняється вузькою спеціалізацією до живильного середовища (меляси) і продуценту [6]. До недоліків апарату відноситься і відсутність схеми підключення до допоміжних приладів та можливість його використання тільки в промислових умовах мікробіологічного виробництва (централізована подача стисненого повітря, пару). Апарат забезпечує недостатньо високий рівень асептичних умов культивування. Не регулюються процеси масообміну в ферментаційній камері.

Найбільш близьким за технічною суттю і досяжності результату є апарат для глибинного культивування мікроорганізмів, що має можливість регулювання інтенсивності масообмінних процесів в субстраті [7]. Відмічається, що апарат має ємність з оболонкою обігріву, технологічні патрубки, кільцевий барботер, приводну мішалку, відбійники на опірних елементах. Не надається схема підключення ферментера до допоміжних приладів, що забезпечують стерилізацію апарату, середовища та режим культивування продуцента. Проте, способи розташування магістралей підключення та запірної арматури (в подальшому, магістралі підключення і запірна арматура називаються "обв'язка") суттєво впливають на асептичні умови культивування. Апарат придатний до культивування лише одноклітинних мікроорганізмів, що не влаштовує вимоги до вирощування соматичних структур макроміцетів.

В основу винаходу поставлено завдання розробки і монтажу лабораторної ферментаційної

установки для культивування базидіоміцетів, у якій за рахунок включення до неї біологічних реакторів (ферментерів), запропонованої обв'язки і її будови підвищуються функціональні можливості ферментерів в умовах лабораторії та покращуються асептичні показники як в апаратах, так і в системі магістралей і запірній апаратурі.

Поставлене завдання вирішується тим, що лабораторна ферментаційна установка для культивування базидіоміцетів містить біологічний реактор згідно винаходу, установка включає два біореактори (1,2) підключених паралельно через обв'язку до автоклаву (3), компресору (4), термостатів (5, 6), водонагрівача (7), блоки автоматичного управління роботою мішалки (8, 9), блок автоматичного управління роботою компресора (10), датчик кисню (11), що герметично вставний у біореактор, контактні термометри (12, 13), що регулюють роботу термостатів та обв'язку (14), яка містить вентилі, клапани, ротаметри, обернені клапани та бактеріальні повітряні фільтри з'єднані між собою магістралями.

На фіг.1 показано схему устрою лабораторної ферментаційної установки. Лабораторна ферментаційна установка складається з біологічних реакторів "Біор-0,1" і "Біор-0,25", горизонтального автоклава "АГ-1", компресора "УК25-1,6М", термостатів "ТС-24А", водонагрівача "ЕВАН-100/1,25 І6", блоку автоматичного управління роботою мішалки "БУЕП-3", блоку автоматичного управління роботою компресора, рО₂ - метра, контактних термометрів та обв'язки. На фіг. 2 показано схему устрою обв'язки лабораторної ферментаційної установки. Обв'язка складається з магістралей, виконаних трубою Ø1,4 мм з харчової нержавіючої сталі, вентилів Рр 23 (Н-Д 22/2), клапанів 122-16 УХП 4 і ВД -125М, ротаметрів РМ-0,63Г, обернених клапанів, бактеріальних повітряних фільтрів (таблиці 1,2).

Лабораторна ферментаційна установка працює таким чином.

1. Стерилізація біореакторів, магістралей і запірної арматури паром (t° 121°C) від автоклава. Стерилізація біореактора "Біор-0,1" здійснюється по магістралі 11-3, а біореактора "Біор-0,25" - по магістралі 11-4. Скид газів і конденсату назовні від "Біор-0,1" здійснюється по магістралі 6-18, а від "Біор-0,25" здійснюється по магістралі 7-19.

2. Заповнення ємності ферментерів (-а) рідким живильним середовищем через вентилі АВ-027 і АВ-013М, розташовані на кришках "Біор- 0,1" і "Біор-0,25" відповідно.

3. Стерилізація біореакторів і середовища паром (t° 121°C) від автоклава. Стерилізація біореактора "Біор-0,1" з рідким живильним середовищем здійснюється по магістралі 11-3, а біореактора "Біор-0,25" - по магістралі 11-4. Скид конденсату назовні від "Біор-0,1" здійснюється по магістралі 6-18, а від "Біор-0,25" здійснюється по магістралі 7-19; скид конденсату від оболонок ферментерів по магістралям 9-20 і 10-20 відповідно.

Етапи 1 і 3 стерилізації обладнання і середовища можуть бути поєднані. У цьому випадку робота лабораторної ферментаційної установки починається з заповнення ємності ферментера (-рів) живильним середовищем.

4. Інокуляція живильного середовища у біореакторах в асептичних умовах через вентилі АВ - 027 ("Біор-0,1") або АВ-013М ("Біор-0,25") суспензією соматичних структур чистої культури макроміцета, наприклад ксилотрофу *Hirschioporus laricinus* (Karst.) Ryv.

5. Культивування продуцента біологічно активних речовин при оптимальних значеннях температури і аерації стерильним повітрям та перемішуванні субстрату. Теплоносії - дистильована вода подається до оболонок ферментерів "Біор-0,1" і "Біор-0,25" по магістралям 12-9, 12-5 відповідно. Оптимальна температура у ферментерах підтримується завдяки подачі теплоносія до оболонки "Біор 0,1" по магістралі 17-9 і у зворотному напрямку - по магістралі 8-16; до оболонки "Біор-0,25" по магістралі 15-5 і у зворотному напрямку - по магістралі 10-14. Повітря від компресору до біореактора "Біор-0,1" подається по магістралі 13-2, а до біореактора "Біор-0,25" - по магістралі 13-1.

6. Встановлення величини рН, вмісту кисню, температури, накопичення метаболіту (наприклад, молокозсідального ферменту) у середовищі під час ферментації. Відбір проб для визначення величин рН, ферментативної активності культурального фільтрату здійснюється через технологічний патрубок ферментера і вентиль, який знаходиться на ньому. Вміст кисню автоматично встановлюється датчиком рО₂ - метр (11). Температура живильного середовища фіксується контактними термометрами (12, 13), що регулюють роботу термостатів.

7. Злив середовища (культурального фільтрату) через технологічний патрубок ферментера і вентиль та магістраль 20; виділення метаболіту, наприклад, молокозсідального ферменту.

Після цього, цикл повторюється.

Система приладів та обладнання поєднана в лабораторну ферментаційну установку таким чином, що дозволяє проводити процес культивування макроміцетів як синхронно, так і асинхронно в паралельно підключених ферментерах (біологічних реакторах).

Таким чином, запропонована лабораторна ферментаційна установка має спрощену технологію монтажу, придатної до умов автономного експериментального виробництва та ферментації макроміцетів. Під час культивування продуцента є можливість фіксації і регулювання важливих умов і показників процесу. Використана нова схема монтажу обв'язки, що дозволяє підвищити асептичні умови культивування за рахунок можливості стерилізації паром всієї установки, забезпечує автономну, безпечну роботу лабораторної ферментаційної установки. Лабораторна установка придатна до поверхневого і глибинного вирощування штамів грибів порядку *Basidiomycetes* з різних систематичних груп - продуцентів біологічно активних речовин для харчової, медичної і хімічної промисловостей.

Джерела інформації, які використані при укладанні заявки.

1. Ас. 1010122 СССР. Аппарат для выращивания микроорганизмов/ Мельников И.А., Доросинский Л.Б., Иванцов В.В., Юрьевич Ю.И., Надеждина А.В. Заявка № 3299794 от 2.06.81, опубл. 7.04.83, кл. С 12 М 1/04.

2. Ас. 1161545 СССР. Аппарат для выращивания микроорганизмов/ Мельников И.А., Доросинский Л.Б., Иванцов В.В., Юрьевич Ю.И. Заявка № 3690278 от 6.01.84, опубл. 15.06.85, кл. С 12 М 1/04.

3. Белки, ферменты и стерилы базидиальных грибов / Под ред. О.П. Низковской. Л.: Наука, 1979. - 72 с.

4. Белова Н.В., Ефремова И.Я. Препараты из высших грибов - объект патентно-правовой охраны // Микология и фитопатология. - 1992. - 26, вып. 4. - С. 321-324.

5. Бухало А.С. Высшие съедобные базидиомицеты в чистой культуре. - Киев: Наук. думка, 1988. - 144 с.

6. Патент 2008347 С1 Российской Федерации. Способ культивирования микроорганизмов и аппарат для его осуществления / Корнеев А.Д., Алибеков К.Б., Жженова А.В., Салатов Ю.П., Громов Г.А. Заявка № 4940106/13 от 31.05.91, кл. С 12 М 1/4, С 12 N 1/00.

7. Патент 22018528 С1 Российской Федерации. Аппарат для глубинного культивирования микроорганизмов/ Третьяков А.П., Щербаков Г.Я. Заявка № 93012477/13 от 10.03.93, кл. С 12 М 1/02 (прототип).

8. Соломко Э.Ф., Дудка И.А. Перспективы использования высших базидиомицетов в микробиологической промышленности // ВНИИСЭНТИ: Обзорная информация. Сер.3. - М., 1985. - 48 с.

Таблица 1

Умовні позначення





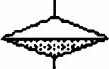

Позначення	Назва пристрою
	ротаметр
	обернений клапан
	вентиль
	регулюючий клапан
	бактеріальний повітряний фільтр
	магістраль

Таблица 2

Призначення магістралей

№ магістралі	Призначення
13-1	повітря від компресору до "Біор-0,25"
13-2	повітря від компресору до "Біор-0,1"
11-3	пар від автоклаву до "Біор-0,1"
11-4	пар від автоклаву до "Біор-0,25"
15-5	теплоносій від термостату до оболонки "Біор-0,25"
6-18	скид газів і конденсату від "Біор-0,1"
7-19	скид газів і конденсату від "Біор-0,25"
8-16	теплоносій від оболонки "Біор-0,1" до термостату
17-9	теплоносій від термостату до оболонки "Біор-0,1"
10-14	теплоносій від оболонки "Біор-0,25" до термостату
12-9	вода від водонагрівача до оболонки "Біор-0,1"
12-5	вода від водонагрівача до оболонки "Біор-0,25"
20	скид конденсату від оболонок "Біор-0,1" і "Біор-0,25", злив культурального фільтрату

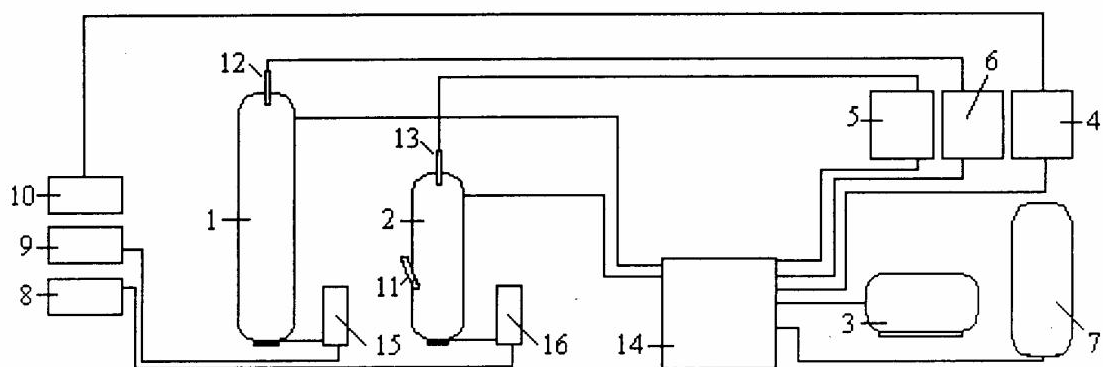


Fig. 1

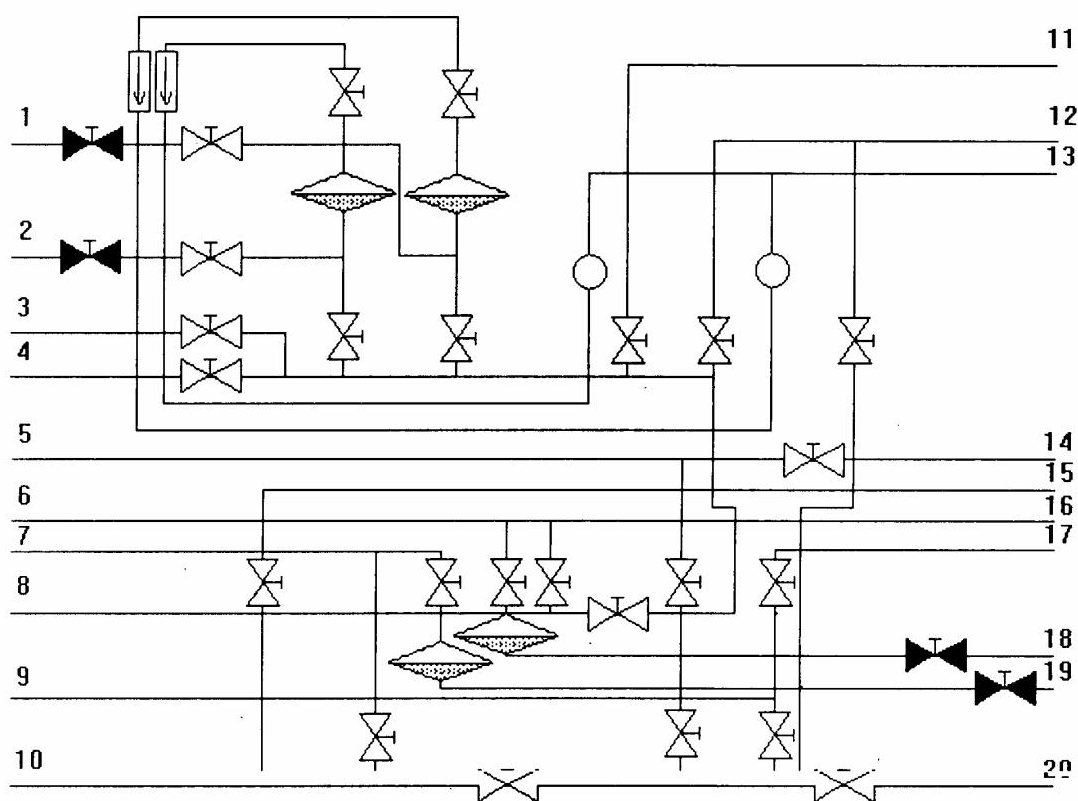


Fig. 2

Тираж 50 экз.

Відкрите акціонерне товариство «Патент»
Україна, 88000, м. Ужгород, вул. Гагаріна, 101
(03122) 3 – 72 – 89 (03122) 2 – 57 – 03

40900