



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) UA

(11) 99419

(13) U

(51) МПК

C12N 1/20 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2014 10235**

(22) Дата подання заявки: **18.09.2014**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **10.06.2015**

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **10.06.2015, Бюл.№ 11**

(72) Винахідник(и):

**Осолодченко Тетяна Павлівна (UA),
Пономаренко Світлана Володимирівна
(UA),
Лук'яненко Тетяна Василівна (UA),
Менкус Олена Валерівна (UA),
Порт Олена Валерівна (UA),
Литвиненко Оксана Анатолівна (UA),
Завада Надія Петрівна (UA)**

(73) Власник(и):

**ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ
МІКРОБІОЛОГІЇ ТА ІМУНОЛОГІЇ ІМ. І.І.
МЕЧНИКОВА НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ
МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ",
вул. Пушкінська, 14-16, м. Харків, 61057
(UA)**

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ФЕРМЕНТОЛІЗАТУ ПОЖИВНОЇ ОСНОВИ ІЗ ДРОБИНИ ЯЧМІННОЇ ДЛЯ КУЛЬТИВУВАННЯ МІКРООРГАНІЗМІВ

(57) Реферат:

Спосіб одержання ферментолізату поживної основи із ячмінної дробини включає ферментативний гідроліз субстрату, фільтрацію та стерилізацію гідролізату. Ферментативний гідроліз субстрату проводять панкреатином, після чого гідролізат автоклавують, після чого одержаний стерильний гідролізат фільтрують, нейтралізують розчин до рН 6,6-7,9 розчином лужних речовин, додають агар.

UA 99419 U

Корисна модель належить до медичної мікробіології та біотехнології, зокрема до конструювання поживних середовищ для культивування мікроорганізмів, а саме є способом одержання живильної основи із промислових відходів спиртового виробництва.

Як поживні основи мікробіологічних середовищ традиційно використовуються кислотні, лужні або ферментативні гідролізати сировини тваринного або рослинного походження з високим вмістом білків (м'ясо та внутрішні органи промислових тварин, риба, соя тощо). Основним якісним параметром кінцевого продукту є вміст амінного азоту. Головною причиною, що заважає одержанню бажаного технічного результату, є відносно висока вартість сировини.

Одним із аналогів корисної моделі, що заявляється, є спосіб одержання живильної основи із дробини ячмінної [1], що передбачає використання як вихідної сировини рослинної сировини відходів харчового виробництва. Дробина ячмінна - це продукт переробки пивоварного виробництва та являє собою сухий залишок ячмінного солоду після виготовлення суслу. До причин, що заважають одержанню бажаного технічного результату, слід віднести недостатньо високий рівень технологічності, та відповідно, промислової придатності, зумовлений особливостями обраної сировини та засобами гідролізу, тому застосування цього технічного рішення обмежується виробництвом в лабораторних умовах незначних обсягів продукту.

Дробина ячмінна (далі ДЯ), яка є відходом пивоварного виробництва. Вміст в ній сухої речовини складає (87,0-92,0) %, з яких (24,0-32,0) % протеїни, клітковина (13,0-17,0) %, вказане і зумовлює вельми обмежені терміни її зберігання. В натуральному вигляді ця субстанція фактично не має ринкової цінності та потребує швидкої утилізації, що створює певні технологічні та екологічні проблеми. На сьогодні найбільш ефективним та екологічним способом утилізації ДЯ є висушування з наступним гранулюванням та одержанням продукту з певною ринковою вартістю. Суха ячмінна дробина має значно триваліші строки зберігання та використовується у виробництві тваринних комбікормів. При цьому постійне зростання обсягів виробництва в світі тваринних комбікормів зумовлює тенденцію до зниження ринкової вартості цього продукту, що в країнах з недостатньо жорстким екологічним законодавством робить економічно недоцільним впровадження цієї технології та зумовлює актуальність розробки альтернативних шляхів утилізації ДЯ.

Придатність для виробництва поживних основ мікробіологічних середовищ зумовлює нутритивна цінність ДЯ, що визначається наявністю протеїнів та різноманітних вуглецевих сполук тощо.

В основу корисної моделі поставлено задачу розробити поживну основу для мікробіологічних середовищ, в якій за рахунок підбору оптимальних параметрів обробки ДЯ забезпечити одержання субстрату, здатного забезпечити стандартні ростові якості мікробів, виділених із клінічного матеріалу.

Поставлена задача вирішується шляхом застосування способу одержання поживної основи із дробини ячмінної, що включає ферментативний гідроліз субстрату, фільтрацію та стерилізацію гідролізату, при цьому, згідно з корисною моделлю, ферментативний гідроліз субстрату проводять панкреатином у концентрації 1,0-2,0 г/л, після чого гідролізат автоклавують при 0,7-1,5 атм протягом 20-40 хв, після чого одержаний стерильний гідролізат фільтрують, нейтралізують розчин до рН 6,6-7,9 розчином лужних речовин, додають агар до концентрації 15-25 г/л.

До суттєвих ознак рішення, що заявляється, належить використання як субстрату ячмінної дробини, використання ферментативного гідролізу з застосуванням панкреатину [2, 3], наступною стерилізацією фільтрацією та повторною стерилізацією. Оптимальна концентрація панкреатину визначалася за рівнем амінного азоту в одержаному гідролізаті (табл. 1).

Таблиця 1

Кількість амінного азоту в гідролізаті ДЯ,
одержаному при використанні різних концентрацій панкреатину

Концентрація панкреатину г/л	Експозиція/год.	Амінний азот, мг/% (M±m)
1,0	8	220,3±16,8
	10	226,6±14,4
	12	228,5±14,7
	14	233,9±16,9
1,25	8	224,4±14,6
	10	226,5±15,2

Продовження таблиці 1

	12	228,7±15,6
	14	246,8±16,3
1,5	8	235,5±15,5
	10	243,7±17,8
	12	249,6±18,6
	14	259,9±20,5
1,75	8	248,5±21,2
	10	258,3±21,4
	12	265,9±22,3
	14	285,9±22,5

Наведені данні свідчать про те, що одержується бажаний технічний результат при концентрації панкреатину 1,0-2,0 г/л протягом 8-12 год., що забезпечує вміст амінного азоту в гідролізаті (258-285) мг/%. Застосування концентрацій нижче ніж 1,0 % недоцільно у зв'язку з суттєвим уповільненням дозозалежного зростання рівня амінного азоту при подальшому збільшенні концентрації ферменту. Тривалість експозиції 8-12 годин є оптимальною для гідролізу цього роду субстрату та, з урахуванням продовження гідролітичного процесу на тлі подальшого автоклавування при тиску 0,7-1,5 атм протягом 20-40 хв, забезпечує достатній вміст амінного азоту в одержаному продукті.

Спосіб, умови ферментації, фільтрації та повторної стерилізації можуть варіювати в різних варіантах виконання. Вибрані нами параметри (а саме: ферментація протягом 8-12 годин, фільтрація та автоклавування протягом 20-40 хв при тиску 0,7-1,5 атм) дозволяють одержати рідку живильну основу з вмістом амінного азоту 258-285 мг/%, придатну до зберігання при температурі +4 °С протягом 90 діб.

Дані, що підтверджують можливість здійснення корисної моделі, наведено в прикладах.

ПРИКЛАД 1. Одержання поживної основи

На 1000 г дробини ячмінної, яку розводили водою 1:2, додавали 1,0-2,0 г/л панкреатину, витримували протягом 8-12 годин при $t=50$ °С, стерилізували в автоклаві протягом 20-40 хвилин при тиску 0,7-1,5 атм. Після цього вносили 20,0 г агару, перемішували та стерилізували в автоклаві 20-30 хв при тиску 1,0-1,5 атм.

Одержана таким чином основа являла собою прозору рідину жовтого кольору, що містила 323,0 мг/% загального азоту, 285,0 мг/% амінного азоту, 5,4 мг/мл Fe^{2+} , 0,6 % NaCl.

ПРИКЛАД 2. Одержання та характеристика якісних параметрів поживного середовища, виготовленого з використанням одержаної живильної основи

100 мл основи розводили дистильованою водою до вмісту амінного азоту 120-140 мг/%, додавали 2,0 % агару, стерилізували 20-30 хвилин при тиску 1,0-1,5 атм, проводили контроль вмісту амінного азоту та рН.

Перевірку ростових якостей одержаного середовища здійснювали за методикою з використанням стандартних штамів мікроорганізмів, рекомендованих для контролю якості поживних середовищ. Наявність росту при висіві розведення культури, що містило 10^{-7} мікробних клітин в мл, розцінювали як показник задовільної ростової якості для конкретного тест-штаму [5]. Оцінка результатів проводилась через 24 години культивування (для бактерій) та через 48 годин (для грибів роду *Candida*) (табл. 2).

Таблиця 2

Ростові якості середовища на основі ферментолізату із ДЯ

Тест-штами	Ступінь росту розведенні	КУО/мл при
	10^{-2}	10^{-1}
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	55,6±0,7	5,5±0,5
<i>Staphylo coccus aureus</i> ATCC 6538	57,7±0,8	5,7±0,6
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	63,6±0,8	6,3±0,5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	68,5±0,6	6,8±0,4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	69,8±0,9	6,9±0,7
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 4636	зливний ріст	5,6±0,5

Продовження таблиці 2

ї

Bacillus subtilis ATCC 6633	66,8±0,8	6,6±0,4
Candida albicans ATCC 885-653	54,8±0,7	5,4±0,6

Дані, наведені в табл. 3, свідчать про достатньо високий рівень продуктивності одержаного середовища при культивуванні окремих видів бактерій, а також грибів роду *Candida*.

Таблиця 3

Продуктивність живильного середовища на основі дробини ячмінної в порівнянні з ПА

Тест-штами мікроорганізмів та клінічні ізоляти	Кількість клітин, млрд/мл, М±m	
	ПА	Середовище на основі ДЯ
1	2	3
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	67,7±0,8	66,3±0,6
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	68,6±0,9	66,6±0,7
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	65,8±0,9	65,4±0,5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	67,8±0,9	66,7±0,7
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	67,9±0,7	66,5±0,7
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 4636	зливний ріст	зливний ріст
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	69,5±0,9	67,4±0,7
<i>Candida albicans</i> ATCC 885-653	62,3±0,5	60,5±0,5
<i>Staphylococcus aureus</i> 94 (клінічний)	69,8±0,9	68,7±0,8
<i>Escherichia coli</i> 45 (клінічний)	68,7±0,5	68,8±0,5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 93 (клінічний)	74,7±0,8	74,3±0,8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 46 (клінічний)	77,8±1,4	76,3±1,2
<i>Candida albicans</i> 239 (клінічний)	62,8±1,3	61,2±1,1

5

Наведені дані свідчать, що середовище на основі ферментолізу дробини ячмінної може бути використано для культивування *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*.

Джерела інформації:

1. Патент України на корисну модель № 80008 від 13.05.2013 "Спосіб одержання поживної основи із зернової барди" / [Текст] Осолодченко Т.П., Волянська Н.П., Кучма І.Ю., Лук'яненко Т.В., Волянський А.Ю., Максютенко Л.А., Менкус О.В., Завада Н.П. та інші. Заявник ДУ "ІМІ НАМН" (UA), заявка u201213237 (UA), МПК⁷ C12N 1/20 заявл. 20.11.2012.
2. Омарова Э.Б., Меджидов М.М., Султанов З.З. Способ получения стимулятора роста микроорганизмов из кормовых дрожжей. Патент № 2227153. Бюлл. Изоб. полезные модели. М., 2004. - № 11 (3 ч). - С. 516.
3. Максимова Е.М. Разработка технологии утилизации белковых отходов методом ферментативного гидролиза / Е.М. Максимова // Вестник МГТУ. - 2006. - том 9. - № 5. - С. 875-879.

20

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

25

Спосіб одержання ферментолізату поживної основи із ячмінної дробини, що включає ферментативний гідроліз субстрату, фільтрацію та стерилізацію гідролізату, який **відрізняється** тим, що ферментативний гідроліз субстрату проводять панкреатином у концентрації 0,7-1,5 г/л, після чого гідролізат автоклавують при 1,0-2,0 атм протягом 20-40 хв, після чого одержаний стерильний гідролізат фільтрують, нейтралізують розчин до рН 6,6-7,9 розчином лужних речовин, додають агар до концентрації 15-25 г/л.

Комп'ютерна верстка Г. Паяльніков

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601