



СОЮЗ СОВЕТСКИХ
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ
РЕСПУБЛИК

(19) SU (11) 1659482 A1

(51) C 12 N 11/14

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ
ПО ИЗОБРЕТЕНИЯМ И ОТКРЫТИЯМ
ПРИ ГКНТ СССР

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ

1

(21) 4603088/13

(22) 13.11.88

(46) 30.06.91. Бюл. № 24

(71) Институт микробиологии и вирусологии
им. Д.К. Заболотного и Институт химии по-
верхности АН УССР

(72) И.К. Курдиш, Е.А. Цимберг, Л.В. Титова,
В.С. Подгорский, А.А. Чуйко, Е.И. Андреюк
и А.Ф. Антипчук

(53) 663.18 (088.8)

(56) Авторское свидетельство СССР
№ 1280006, кл. C 12 N 1/20, 1985.

(54) СПОСОБ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИК-
РООРГАНИЗМОВ

2

(57) Изобретение относится к биотехноло-
гии, а именно к получению биомассы микро-
организмов. Целью изобретения является
увеличение выхода биомассы. Способ куль-
тивирования дрожжей рода *Candida* и бак-
терий рода *Азотобактер* включает
выращивание этих микроорганизмов в жид-
кой питательной среде с введением твердой
фазы, в качестве которой используют высо-
дисперсную смесь двуокиси кремния с
окисью алюминия в концентрации 0,005-
0,5 мас. % с массовым содержанием окиси
алюминия в смеси 6,9% 7 табл

Изобретение относится к биотехноло-
гии, а именно к получению биомассы микро-
организмов.

Целью изобретения является увеличе-
ние выхода биомассы.

Способ осуществляют следующим обра-
зом.

Культивирование микроорганизмов ве-
дут в питательных средах, в которые вводят
высокодисперсную смесь двуокиси кремния
с окисью алюминия в концентрации 0,005-
0,5% (мас.об.).

Эту смесь получают в заводских услови-
ях путем совместного гидролиза хлоридов
кремния и алюминия в пламени воздушно-
водородной смеси.

Средний размер полученных дисперс-
ных частиц составляет 5-40 нм.

Наиболее выраженный стимулирующий
эффект на рост исследуемых микроорганиз-

мов оказала высокодисперсная смесь дву-
окиси кремния с окисью алюминия с массо-
вым содержанием Al_2O_3 6,9% (табл. 1)

Наиболее высокий прирост биомассы
дрожжей и бактерий наблюдается при кон-
центрации высокодисперсной смеси Al_2O_3 и
 SiO_2 0,05-0,1%. (таблица 2 и 3).

Пример 1. Культуру дрожжей *Candida*
tropicalis K-41 выращивают при 37°C в кол-
бах объемов 750 мл на качалках в течение
5 ч, на среде Ридер, следующего состава,
г/л: $(NH_4)_2SO_4$ 3,0; NaCl 0,5; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$
0,2; KH_2PO_4 1,0; $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ 0,1; глюкоза
20,0. Кроме того, в среду вносили микро-
элементы, мг/л: KI 0,2; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 34,2;
 $MnSO_4 \cdot 5H_2O$ 22,2; $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 22,1; $NaMoO_4$
- 0,4; $CuSO_4$ 0,2, а также дестиобиотин
20 мкг/л.

Объем культуральной среды составляет
50 мл. В три опытные колбы вносят 0,1%

ФФ-К

(19) SU (11) 1659482 A1

высокодисперсной смеси двуокиси кремния с окисью алюминия. В три контрольные колбы высокодисперсную смесь не вносят. Результат эксперимента учитывают по изменению оптической плотности микроорганизмов при 590 нм и pH-среды. Данные приведены в табл. 4. Введение высокодисперсной смеси двуокиси кремния с окисью алюминия в питательную среду ускоряет рост микроорганизмов и стабилизирует pH-среды.

Пример 2. Культуру дрожжей *Candida tropicalis* K-41 выращивают при 37°C в ферментерах на среде Ридер вышеприведенного состава. Объем среды 1 л. Интенсивность аэрации 0,5 л/мин. Скорость вращения мешалки для перемешивания среды 400 об/мин. В суспензию микроорганизмов вносят 0,05% высокодисперсной смеси двуокиси кремния с окисью алюминия.

Для сравнения исследования проводят по той же методике с внесением в дрожжевую суспензию вместо высокодисперсной смеси двуокиси кремния с окисью алюминия чистой высокодисперсной двуокиси кремния.

В контрольном варианте экспериментов дрожжи культивируют в описанных выше условиях в отсутствие высокодисперсных материалов.

Во всех вариантах экспериментов культивирование дрожжей осуществляют в 3–5 повторностях при автоматическом поддержании pH среды на уровне 4,0–4,2 ед.

Результаты экспериментов оценивают по приросту биомассы дрожжей и потреблению ими глюкозы. Полученные данные (табл. 5) свидетельствуют о том, что культивирование дрожжей в питательной среде, содержащей высокодисперсную смесь двуокиси кремния с окисью алюминия, приводит к значительному повышению выхода биомассы, более полному использованию субстрата/глюкозы/ и обеспечивает возможность сокращения времени процесса культивирования на 25%.

Пример 3. Культуру микроорганизмов *Azotobacter chroococcum* шт.20 выращивают при 30°C в колбах объемом 750 мл на качалках в течение 48 ч на среде Эшби следующего состава, г/л: K_2HPO_4 0,2; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,2; NaCl 0,2; K_2SO_4 0,1; мел 5,0; сахара 20,0; вода до 1000,0; pH среды 6,8 ед.

В три опытные колбы вносят 0,05% (мас.об.) высокодисперсной смеси двуокиси кремния с окисью алюминия, в три другие

колбы – такое же количество аэросила А-300. В три колбы контроля высокодисперсные материалы не вносят. Результаты экспериментов учитывают по количеству клеток в микробной суспензии в конце эксперимента, определяемом путем высева из разведений на поверхность агаризованной среды Эшби в чашки Петри.

Полученные данные (табл.6) указывают на то, что культивирование *Azotobacter chroococcum* в присутствии высокодисперсной смеси двуокиси кремния с окисью алюминия более, чем в 4 раза увеличивает выход клеток данных микроорганизмов и стабилизирует концентрацию ионов водорода в культуральной среде.

Пример 4. Культуру микроорганизмов *Azotobacter chroococcum* выращивают в условиях, аналогичных примеру 3. В опытные колбы вносят различные концентрации высокодисперсной смеси двуокиси кремния с окисью алюминия от 0,005% до 0,5% (мас.об.). В контрольные колбы аэросил не вносят.

Результаты экспериментов оценивают по количеству клеток в суспензии микроорганизмов, используя методику, приведенную в примере 3. Данные экспериментов (табл.3) свидетельствуют о том, что высокодисперсная смесь двуокиси кремния с окисью алюминия в концентрации 0,005–0,5% стимулирует рост микроорганизмов.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что культивирование микроорганизмов в жидких питательных средах, содержащих высокодисперсную смесь двуокиси кремния с окисью алюминия в концентрации 0,005–0,500% (мас.об.) позволяет значительно увеличить выход клеток, обеспечивает более экономное и полное использование углеродного субстрата, создает более оптимальные условия для роста микроорганизмов по pH среды и позволяет сократить продолжительность процесса культивирования.

Формула изобретения

Способ культивирования микроорганизмов в жидкой питательной среде с введением твердой фазы, о т л и ч а ю щ и й с я тем, что, с целью увеличения выхода биомассы, в качестве твердой фазы используют высокодисперсную смесь двуокиси кремния с окисью алюминия с массовым содержанием окиси алюминия в смеси 6,9% при этом смесь вносят в количестве 0,005–0,5 мас. %.

Таблица 1

Влияние отношения диоксида кремния и оксида алюминия в их высокодисперсной смеси на рост дрожжей *Candida tropicalis* K-41

Показатель роста	Культивирование в отсутствие высокодисперсной смеси	Культивирование при соотношении Al_2O_3 и SiO_2 в смеси		
		0,64% Al_2O_3 99,36% SiO_2	6,9% Al_2O_3 93,1% SiO_2	11,4% Al_2O_3 88,6% SiO_2
Прирост биомассы, %	100	320	480	220

Примечание. Концентрация высокодисперсной смеси 0,05%

Таблица 2

Влияние различных концентраций высокодисперсной смеси диоксида кремния с окисью алюминия на рост дрожжей *Candida tropicalis* K-41

Показатель роста	Культивирование в отсутствие смеси	Культивирование при концентрации смеси, %						
		0,01	0,05	0,10	0,20	0,30	0,4	0,5
Прирост биомассы, %	100	100	142	142	106	113	94,6	89,5

Таблица 3

Влияние различных концентраций высокодисперсной смеси двуокиси кремния с окисью алюминия на рост бактерий

Концентрация высокодисперсной смеси, % (мас.об.)	Содержание микроорганизмов	
	кл/мл	%
0	$3,2 \cdot 10^7$	100,0
0,005	$4,7 \cdot 10^7$	135,5
0,010	$5,6 \cdot 10^7$	176,7
0,025	$11,4 \cdot 10^7$	356,2
0,100	$8,7 \cdot 10^7$	271,9
0,200	$13,4 \cdot 10^7$	419,0
0,500	$13,1 \cdot 10^7$	410,0

Примечание. Концентрация бактерий в суспензии в начале эксперимента составляла $8 \cdot 10^5$ кл/мл

Таблица 4

Влияние высокодисперсной смеси двуокиси кремния с окисью алюминия на рост дрожжей *Candida tropicalis*

Условие культивирования	Оптическая плотность суспензии в эксперименте		рН суспензии в эксперименте	
	в начале	в конце	в начале	в конце
Без внесения дисперсных материалов	0,34	0,8	4,0	2,95
Высокодисперсная смесь двуокиси кремния с окисью алюминия	0,39	1,1	4,0	3,2

П р и м е ч а н и е . В начале эксперимента оба варианта содержали одинаковое количество дрожжей. В этом случае различия в оптической плотности были обусловлены внесением высокодисперсной смеси

Таблица 5

Особенности роста дрожжей *Candida tropicalis* при взаимодействии с высокодисперсной смесью двуокиси кремния с окисью алюминия

Время роста, ч	Условие культивирования			
	В отсутствие высокодисперсных материалов (контроль)		при внесении в среду высокодисперсных материалов	
	содержание биомассы, г/л	концентрация глюкозы, %	содержание биомассы, г/л	концентрация глюкозы, %
0	0,7±0,04	1,92±0,01	0,78±0,11	1,91±0,02
1	0,82±0,02	1,90±0,01	1,36±0,23	1,66±0,03
2	1,56±0,21	1,62±0,10	2,14±0,33	1,55±0,10
3	2,70±0,17	1,42±0,10	3,60±0,58	1,15±0,08
4	4,02±0,44	1,00±0,20	5,82±0,60	1,05±0,15
5	5,24±0,39	0,65±0,27	8,82±1,42	0,38±0,31
6	7,05±0,75	0,28±0,19	11,30±0,93	0,11±0,08
7	7,95±1,13	0,10±0,09	11,10±0,70	0,0
8	8,83±1,60	0,0	11,35±1,35	0,0

Таблица 6

Влияние дисперсных материалов на рост микроорганизмов *Azotobacter chroococcum*

Условие культивирования	Количество клеток рН среды в эксперименте			
	кл/мл	%	в начале	в конце
Без внесения дисперсных материалов	3,4·10 ⁷	100,0	6,8	6,50
Аэросил А-300 (0,05 мас. %)	5,1·10 ⁷	150,0	6,8	6,60
Высокодисперсная смесь двуокиси кремния с окисью алюминия (0,05 мас. %)	15,8·10 ⁷	467,0	6,8	6,80

П р и м е ч а н и е . Концентрация бактерий в суспензии в начале эксперимента составляла 8·10⁵ кл/мл

Таблица 7

Влияние дисперсных материалов на рост дрожжей *Candida tropicalis* K-41

Условия культиви- рования	Прирост биомассы	
	г/л	%
Без внесения дис- персных материа- лов	7,30	100,0
Аэросил А-300 (0,05 мас. %)	7,26	99,5
Высокодисперсная смесь двуокиси кремния с окисью алюминия (0,05 мас. %)	11,35	155,5

Редактор Л. Герасимова Составитель Т. Золотарева
Техред М. Моргентал Корректор Н. Король

Заказ 1821 Тираж 373 Подписное
ВНИИПИ Государственного комитета по изобретениям и открытиям при ГКНТ СССР
113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., 4/5

Производственно-издательский комбинат "Патент", г. Ужгород, ул. Гагарина, 101

