



УКРАЇНА

(19) UA (11) 22376 (13) A

(51) C 12 N 1/00

ДЕРЖАВНЕ
ПАТЕНТНЕ
ВІДОМСТВООПИС ДО ПАТЕНТУ
НА ВІНАХІДбез проведення експертизи по суті
на підставі Постанови Верховної Ради України
№ 3769-XII від 23 XII. 1993 р.Публікується
в редакції заявника(54) ПОЖИВНЕ СЕРЕДОВИЩЕ ДЛЯ ВИРОЩУВАННЯ ВАКЦИННИХ ШТАМІВ
МІКРООРГАНІЗМІВ І СПОСІБ ЙОГО ПРИГОТУВАННЯ

1

(21) 97052356

(22) 22.05.97

(24) 03.03.98

(46) 30.06.98. Бюл. № 3

(47) 03.03.98

(56) 1. Методические рекомендации по изготовлению и использованию питательных сред и растворов для микробиологических целей, культивирования клеток и вирусов. - Всесоюзная Академия сельскохозяйственных наук им. В.И. Ленина, Всесоюзный научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. Я.П. Коваленко. М., 1986, с. 22-23, 29-30.

2. Инструкция по изготовлению и контролю вакцины живой сухой из штамма ВР-2 против рожи свиней. Утверждена Государственным агропромышленным комитетом СССР 8 сентября 1987, с. 15-18.

3. Інструкція по виготовленню і контролю рузіваку. Затверджена Міністерством сільського господарства і продовольства України 2 серпня 1995, с. 8.

4. Інструкція по виготовленню і контролю вакцин проти сальмонельозу, пастерельозу і ентерококової інфекції поросят асоційована. Затверджена Міністерством сільського господарства і продовольства України 20 жовтня 1995, с. 5-6 (прототип).

(72) Доценко Віктор Васильович

(73) Доценко Віктор Васильович

(57) 1. Питательная среда для выращивания вакцинных штаммов микроорганизмов, содержащая обогащенную белковую основу, воду, отличающаяся тем, что в качестве обогащенной белковой основы используют ферментативный гидролизат сухого белкового концентрата из побочных продуктов

2

мясо-молочных производств при следующем соотношении компонентов, об. %:

Ферментативный гидролизат сухого белкового концентрата из побочных продуктов мясо-молочных производств	18-51
Вода	Остальное

2. Питательная среда для выращивания вирусных штаммов микроорганизмов по п. 1, отличающаяся тем, что содержание аминного азота в питательной среде составляет 140-230 мг %.

3. Способ приготовления питательной среды для выращивания вакцинных штаммов микроорганизмов, предусматривающий подготовку белковой основы путем ферментативного гидролиза, разбавление гидролизата водой, регулирование pH среды, ее температурную обработку кипячением, стерилизацию, отличающийся тем, что основу для ферментативного гидролиза в виде сухого белкового концентрата из побочных продуктов мясо-молочных производств смешивают с подогретой до температуры $90 \pm 1^\circ\text{C}$ водой в количественном соотношении 1:7-20 соответственно, после чего смесь охлаждают до температуры $50 \pm 1^\circ\text{C}$, затем в нее добавляют ферментативный агент с осуществляют ферментативный гидролиз полученной смеси при температуре $49 \pm 0,5^\circ\text{C}$ в течение 3,5-8 часов, и после окончания гидролиза в полученном гидролизате устанавливают оптимальное значение pH с последующим кипячением.

4. Способ по п. 3, отличающийся тем, что в качестве ферментативного агента используют поджелудочную железу крупно-

(19) UA (11) 22376 (13) A

го рогатого скота или свиней в количестве 20–30 % вес.

5. Способ по п. 3, отличающийся тем, что ферментативный гидролиз осуществляют при постоянном перемешивании при pH 7,9–8,1 с подщелачиванием реакционной взвеси 33%-ным раствором едкого натра через каждый час.

6. Способ по п. 3, отличающийся тем, что после окончания гидролиза опти-

мальное значение pH в полученном гидролизате устанавливают последовательно, при этом вначале pH доводят до значения 4,1–4,2 с последующим кипячением в течение 8–12 минут, а затем pH доводят до значения 7,2–7,6 с последующим кипячением в течение 9–11 минут.

7. Способ по п. 3, отличающийся тем, что приготовленную питательную среду кипятят в течение 25–30 минут, затем фильтруют и стерилизуют.

Изобретение относится к биотехнологии, а именно к питательной среде для выращивания вакцинных штаммов микроорганизмов и к способу ее приготовления.

В настоящее время одной из проблем развития биотехнологической отрасли является поиск дешевых качественных питательных сред для глубинного культивирования различных микроорганизмов, в том числе при производстве вакцин.

Существует питательная среда для микробиологических целей, содержащая ферментативный гидролизат – мясной перевар Хоттингера, воду [1]

Однако такая питательная среда и способ ее приготовления предусматривают использование и других компонентов – источников питания. А из-за продолжительности ферментативного гидролиза в процессе получения такой питательной среды, который длится 5–8 суток, существующая технология является затратной.

В производственной практике существуют питательная среда для изготовления вакцины против рожи свиней и способ ее приготовления [2], питательная среда для изготовления рузивака – смеси живых вакцинных культур штаммов *Erysipelothrix insidiosus* BP-2 и ВГНКИ-6/26 и способ ее приготовления [3].

Однако из-за использования в качестве белковой основы мясного перевара Хоттингера в таких средах необходимо использование и других источников питания. Кроме того, длительный, в течение 5–6 часов, процесс ферментативного гидролиза при получении известных питательных сред обуславливает значительные производственные затраты.

Наиболее близким к заявляемому изобретению является одна из производственных питательных сред для выращивания ассоциированных вакцинных штаммов микроорганизмов и способ ее приготовления,

используемые в отечественной практике [4]. Такая питательная среда содержит белковую основу в виде мясного перевара Хоттингера, обогащенного другими добавками, и воду. Известный способ приготовления питательной среды предусматривает ферментативный гидролиз белковой основы после смешивания ее с водой, регулирование pH среды, ее температурную обработку кипячением и стерилизацией.

Однако из-за дефицита, высокой стоимости используемых в известных питательных средах мясных переваров Хоттингера существующие питательные среды экономически не целесообразны. Такие питательные среды не содержат достаточного количества аминокислот, при этом мясо не является оптимальным продуктом для приготовления питательных сред, коэффициент его использования в этом случае составляет лишь 20%, в результате чего для обогащения белковой основы необходимо использование дополнительных источников питания. Известный способ приготовления питательной среды из-за длительности ферментативного гидролиза в течение 5–6 суток предусматривает значительные материальные затраты на осуществление процесса. Такой способ также не обеспечивает получения гидролизата с высоким содержанием аминокислот, что в итоге не способствует повышению накопления биомассы на стадии культивирования целевых микроорганизмов.

В основу изобретения поставлена задача создания питательной среды для выращивания вакцинных микроорганизмов и способа ее приготовления, в которых соответственно, в питательной среде для выращивания вакцинных штаммов микроорганизмов за счет состава, совокупности и количественного соотношения компонентов с использованием при этом в качестве белковой основы ферментативного гидролизата сухого белкового

концентрата побочных продуктов мясомолочных производств, а в способе получения этой питательной среды – за счет осуществления в определенной последовательности при соответствующих параметрах процесса кратковременного ферментативного гидролиза белковой основы в результате увеличения в питательной среде содержания аминокислот от 3,7 до 8,9 мг%, увеличения степени расщепления белка от 0,4 до 0,8 увеличилось бы накопление биомассы, концентрация микроорганизмов на стадии культивирования в 1,5 раз, сократились материальные затраты на проведение процесса приготовления питательной среды.

Для решения поставленной задачи питательная среда для выращивания вакцинных штаммов микроорганизмов, содержащая обогащенную белковую основу и воду, согласно изобретению, в качестве обогащенной белковой основы содержит ферментативный гидролизат сухого белкового концентрата из побочных продуктов мясомолочных производств при следующем соотношении компонентов, объем. %: ферментативный гидролизат сухого белкового концентрата из побочных продуктов мясомолочной промышленности в количестве 18–51, вода – остальное.

Содержание аминного азота в заявляемой питательной среде составляет 140–230 мг%.

Для решения поставленной задачи в способе приготовления питательной среды для выращивания вакцинных штаммов микроорганизмов, предусматривающем подготовку белковой основы путем ферментативного гидролиза, разбавление полученного гидролизата водой, регулирование pH питательной среды, ее температурную обработку кипячением, стерилизацию, согласно изобретению, для приготовления ферментативного гидролизата используют основу в виде сухого белкового концентрата из побочных продуктов мясомолочных производств, который смешивают с подогретой до $90 \pm 1^\circ\text{C}$ водой в количественном соотношении 1:7–20 соответственно. После этого смесь охлаждают до температуры $50 \pm 1^\circ\text{C}$ и добавляют в нее ферментативный агент. Затем осуществляют ферментативный гидролиз полученной смеси при температуре $49 \pm 0,5^\circ\text{C}$ в течение 3,5–8 часов. После окончания гидролиза в полученном гидролизате устанавливают оптимальное значение pH с последующим кипячением.

В качестве ферментативного агента используют поджелудочную железу животных в количестве 20–30 % вес.

Ферментативный гидролиз осуществляют при постоянном перемешивании при pH 7,9–8,1, подщелачивая реакционную взвесь 33%-ным раствором едкого натра через каждый час.

После окончания гидролиза оптимальное значение pH в полученном гидролизате устанавливают последовательно в два приема, на первом из которых pH доводят до значения 4,1–4,2 с последующим кипячением в течение 8–12 минут, а затем pH доводят до значения 7,2–7,6 с последующим кипячением в течение 9–11 минут.

Приготовленную питательную среду кипятят в течение 25–30 минут, затем фильтруют и стерилизуют.

Совокупность всех признаков заявляемой бактериальной питательной среды для выращивания вакцинных штаммов микроорганизмов и способа получения этой питательной среды при осуществлении этих решений в промышленном производстве позволяют увеличить по сравнению с прототипом степень расщепления белка от 0,4 до 0,8, содержание суммы аминокислот в питательной среде – от 3,7 до 8,9 мг%, коэффициент использования продукта при приготовлении питательных сред – от 0,08 до 0,76 и, соответственно, увеличить накопление биомассы, концентрацию микроорганизмов в процессе культивирования микроорганизмов в 1,5 раза, а также сократить материальные затраты в процессе производства.

При поиске различных вариантов прописей питательных сред для выращивания вакцинных штаммов микроорганизмов установлено, что ферментативный гидролизат сухого белкового концентрата, полученного из побочных продуктов мясомолочных производств, является наиболее оптимальным среди азотсодержащих компонентов. При этом согласно заявляемому изобретению его используют не как добавку, а как основу питательной среды, не требующую введения в ее состав дополнительных источников питания. Из ферментативных гидролизатов сухого белкового концентрата были получены 52 серии производственных питательных сред для выращивания в биореакторах вакцинных штаммов микроорганизмов. Конструирование прописей сред проводилось с учетом количественных показателей общего и аминного азота, пептона, аминокислот, необходимых для выращивания конкретных микроорганизмов. Многочисленными экспериментами установлено, что количество аминокислот в заявляемой питательной среде составляет 27, а в прототипе – 18. Таким образом, предлагаемая питательная среда в

сравнении с питательной средой, приготовленной на мясном переваре Хоттингера, оказалась обогащенной по аминокислотам.

В заявляемом способе приготовления питательной среды для выращивания вакцинных штаммов микроорганизмов количественные параметры процесса оптимальны в выбранных граничных пределах. Относительно основного временного режимного параметра, а именно — времени проведения ферментативного гидролиза в течение 3,5–8 часов неочевидным оказалось то, что выход всех аминокислот при ферментативном гидролизе сухого белкового концентрата осуществляется именно за этот период с начала гидролиза, в то время как ферментативный гидролиз согласно прототипу продолжается 5–6 суток. При этом очень важно строгое соблюдение температуры проведения гидролиза, а именно температуры $49 \pm 0,5^\circ\text{C}$.

Именно заявляемый состав питательной среды для выращивания вакцинных штаммов микроорганизмов в неразрывной связи со способом ее получения обеспечивает достижение технического результата и поставленной задачи при осуществлении микробиологического промышленного способа производства вакцин.

Таким образом, предлагаемая питательная среда для выращивания вакцинных штаммов микроорганизмов и способ получения этой среды соответствуют критериям "новизна" и "изобретательский уровень".

Предлагаемая питательная среда и способ ее приготовления широко испытаны в производственной практике Сумской биологической фабрики. Здесь впервые из производственных штаммов, выращенных на питательных средах на основе ферментативного гидролизата сухого белкового концентрата из побочных отходов мясомолочных производств, изготовлены экспериментально производственные серии вакцин против сальмонеллеза свиней, пастереллеза и энтерококковой инфекции поросят, ассоциированные вакцины против сальмонеллеза и другие, которые по всем контрольным тестам отвечали требованиям инструкций и технических условий. Установлено высокое качество и экономичность питательных сред на основе ферментативного гидролизата сухого белкового концентрата из побочных продуктов мясомолочных производств. Такая питательная среда содержит все необходимые ингредиенты для жизнедеятельности вакцинных штаммов микроорганизмов.

Сущность предлагаемых решений иллюстрируется следующими примерами.

Пример 1 Питательная среда для культивирования производственного штам-

ма *Salmonella cholerae* suis № 370 при изготовлении вакцины против сальмонеллеза поросят имеет следующий состав, объем, %:

Ферментативный гидролизат сухого белкового концентрата из побочных продуктов мясомолочных производств	27,4
Вода	Остальное

Питательную среду в количестве 100 л с указанным процентным соотношением компонентов и концентрацией по аминному азоту 200 мг% получают, добавляя 72,6 л воды к 27,4 л ферментативного гидролизата с исходным содержанием аминного азота 730 мг%.

Технологический процесс получения заявляемой питательной среды в соответствии с заявляемым способом ее приготовления осуществляют следующим образом.

Вначале получают ферментативный гидролизат сухого белкового концентрата из побочных продуктов мясомолочных производств (Концентрат сухой белковый. Технические условия ТУУ 46.15.209-97). Для этого сухой белковый концентрат смешивают с подогретой до $90 \pm 1^\circ\text{C}$ водой в количественном отношении 1:15. Затем полученную смесь охлаждают до температуры $50 \pm 1^\circ\text{C}$ и добавляют в нее 25 вес. % измельченной поджелудочной железы крупных рогатых животных или свиней. Ферментативный гидролиз осуществляют в течение 4-х часов при температуре $49 \pm 0,5^\circ\text{C}$ при pH 8,0, подщелачивая реакционную смесь 33%-ным раствором едкого натра через каждый час. После окончания гидролиза гидролизат подкисляют соляной кислотой до pH 4,1, кипятят 10 минут, фильтруют под давлением. Затем устанавливают pH 7,2–7,6, кипятят 10 минут, вновь фильтруют. Готовый гидролизат используют по назначению. В полученном ферментативном гидролизате сухого белкового концентрата в зависимости от его концентрации содержится: общего азота 1900–2100 мг%, аминного азота 730 мг%, пептонов 4,3–5,7%, а также аминокислоты, %: до 0,120 цистина (цистатинин), 0,165 орнитина, 0,490 лизина, 0,600 аргинина, 0,300 аспарагиновой кислоты, 0,250 глицина, 0,290 глутаминовой кислоты, 0,290 треонина, 0,295 аланина, 0,015 пролина, 0,04 триптофана, 0,07 метионина, 0,170 валина, 0,095 фенилаланина, 0,315 лейцина (изолейцина). Готовый ферментативный гидролизат используют по назначению — как основу питательной среды для выращивания вакцинного штамма. К ферментативному гидролизату добавляют водопроводную, деминерализованную или дистиллированную

мера. На полученной питательной среде в условиях аэрации при постоянном перемешивании осуществляют культивирование производственного вакцинного штамма при температуре $37+1^{\circ}\text{C}$.

Концентрация микробных клеток, полученных при выращивании штаммов с использованием заявляемых изобретений, составляет 25–27 млрд./мл, а концентрация микробных клеток, полученных с использованием прототипа, составляет 15–18 млрд./мл.

Пример 2. Питательная среда для культивирования производственного штамма *Pasteurella multocida* № 656 при изготовлении вакцины против пастереллеза поросят имеет следующий состав, объем, %:

Ферментативный гидролизат сухого белкового концентрата из побочных продуктов мясо-молочных производств	19,4
Вода	Остальное

Питательную среду в количестве 100 л с указанным процентным соотношением компонентов и концентрацией по аминному азоту 140 мг% получают, добавляя 80,6 л воды к 19,4 л ферментативного гидролизата с исходным содержанием аминного азота 720 мг%.

Технологический процесс получения заявляемой питательной среды в соответствии с заявляемым способом ее приготовления осуществляют следующим образом.

Вначале получают ферментативный гидролизат сухого белкового концентрата из побочных продуктов мясомолочных производств (Концентрат сухой белковый. Технические условия ТУУ 46.15.209-97). Для этого сухой белковый концентрат смешивают с подогретой до $90+1^{\circ}\text{C}$ водой в количественном соотношении 1:10. Затем полученную смесь охлаждают до температуры $50+1^{\circ}\text{C}$ и добавляют в нее 27 вес. % измельченной поджелудочной железы крупных рогатых животных или свиней. Ферментативный гидролиз осуществляют в течение 4-х часов при температуре $49+0,5^{\circ}\text{C}$ при pH 8,0–8,1, подщелачивая реакционную смесь 33%-ным раствором едкого натра через каждый час. После окончания гидролиза гидролизат подкисляют соляной кислотой до pH 4,1, кипятят 11 минут, фильтруют под давлением. Затем устанавливают pH 7,2–7,62, кипятят 11 минут, вновь фильтруют. Готовый гидролизат используют по назначению. В полученном ферментативном гидролизате сухого белкового концентрата в зависимости от его концентрации содержится: общего азота 2000–2200 мг%, аминного азота 720–770

мг%, пептонов 4,3–6%, а также аминокислоты, %: до 0,130 цистина (цистатионин), 0,170 орнитина, 0,490 лизина, 0,610 аргинина + 0,090 гистидина, 0,340 аспарагиновой кислоты, 0,250 глицина, 0,340 глутаминовой кислоты,

0,240 треонина, 0,272 аланина, 0,012 пролина, 0,03 триптофана, 0,055 метионина, 0,175 валина, 0,095 фенилаланина, 0,330 лейцина (изолейцина). Готовый ферментативный гидролизат используют по назначению – как основу питательной среды для выращивания вакцинного штамма. К ферментативному гидролизату добавляют водопроводную, деминерализованную или дистиллированную воду, как описано в настоящем примере выше. На полученной питательной среде в условиях аэрации при постоянном перемешивании осуществляют культивирование производственного вакцинного штамма при температуре $37+1^{\circ}\text{C}$.

Концентрация микробных клеток, полученных при выращивании вакцинного штамма с использованием заявляемых изобретений составляет 22–23 млрд./мл, а концентрация микробных клеток, полученных с использованием прототипа составляет 15–16 млрд./мл.

Пример 3. Питательная среда для культивирования производственного штамма *Streptococcus faecalis* 13,345 при изготовлении вакцины против энтерококковой инфекции поросят имеет следующий состав, объем, %:

Ферментативный гидролизат сухого белкового концентрата из побочных продуктов мясо-молочных производств	30,5
Вода	Остальное

Питательную среду в количестве 100 л с указанным процентным соотношением компонентов и концентрацией по аминному азоту 220 мг% получают, добавляя 69,5 л воды к 30,5 л ферментативного гидролизата с исходным содержанием аминного азота 720 мг%.

Технологический процесс получения заявляемой питательной среды в соответствии с заявляемым способом ее приготовления осуществляют следующим образом.

Вначале получают ферментативный гидролизат сухого белкового концентрата из побочных продуктов мясо-молочных производств (Концентрат сухой белковый. Технические условия ТУУ 46.15.209-97). Для этого сухой белковый концентрат смешивают с подогретой до $90+1^{\circ}\text{C}$ водой в количественном отношении 1:20. Затем полученную смесь охлаждают до температуры $50+1^{\circ}\text{C}$ и добавляют в нее 20 вес. % измельченной поджелу-

охлаждают до температуры $50 \pm 1^\circ\text{C}$ и добавляют в нее 20 вес. % измельченной поджелудочной железы крупных рогатых животных или свиней. Ферментативный гидролиз осуществляют в течение 4-х часов при температуре 49°C при pH 7,9–8,0, подщелачивая реакционную смесь 33%-ным раствором едкого натра через каждый час. После окончания гидролиза гидролизат подкисляют соляной кислотой до pH 4,1, кипятят 12 минут, фильтруют под давлением. Затем устанавливают pH 7,2–7,6, кипятят 10 минут, вновь фильтруют. Готовый гидролизат используют по назначению. В полученном ферментативном гидролизате сухого белкового концентрата в зависимости от его концентрации содержится: общего азота 2000–2050 мг%, аминокислоты: до 0,136 цистина (цистатинин), 0,130 орнитина, 0,490 лизина, 0,610 аргинина, 0,310 аспарагиновой кислоты, 0,250 глицина, 0,300 глутаминовой кислоты, 0,240 треонина, 0,272 аланина, 0,01 пролина, 0,03 триптофана, 0,05 метионина, 0,18 валина, 0,09 фенилаланина, 0,310 лейцина (изолейцина). Готовый ферментативный гидролизат используют по назначению – как основу питательной среды для выращивания вакцинного штамма. К ферментативному гидролизату добавляют водопроводную, деминерализованную или дистиллированную воду, как описано в настоящем примере выше.

На полученной питательной среде в условиях аэрации при постоянном перемешивании осуществляют культивирование производственного вакцинного штамма при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$.

Концентрация микробных клеток, полученных при выращивании вирусного штамма с использованием заявляемых изобретений составляет 25–26 млрд./мл, а концентрация микробных клеток, полученных с использованием прототипа составляет 12–15 млрд./мл.

Пример 4. Питательная среда для культивирования производственных штаммов, указанных в примере 1 и в примере 3, при изготовлении ассоциированной вакцины против сальмонеллеза и энтерококковой инфекции поросят имеет следующий состав, объем. %:

Ферментативный гидролизат сухого белкового концентрата из побочных продуктов мясо-молочных производств	51
Вода	Остальное

Питательную среду в количестве 100 л с указанным процентным соотношением ком-

понентов и концентрацией по аминному азоту 23 мг% получают, добавляя 49 л воды к 51 л ферментативного гидролизата с исходным содержанием аминного азота 450 мг%. При культивировании штаммов на этой среде концентрация микробных клеток в среднем составляет 24–26 млрд./мл.

Пример 5. Питательная среда для культивирования смеси живых культур *Erysipelothrix insidiosa* BP-2 и ВГНКИ 6/24 при изготовлении вакцины против рожи свиней имеет следующий состав, объем. %:

Ферментативный гидролизат сухого белкового концентрата из побочных продуктов мясо-молочных производств	36,0
Вода	Остальное

Питательную среду в количестве 100 л с указанным процентным соотношением компонентов и концентрацией по аминному азоту 180 мг% получают, добавляя 64 л воды к 36 л ферментативного гидролизата с исходным содержанием аминного азота 500 мг%.

Технологический процесс получения заявляемой питательной среды в соответствии с заявляемым способом ее приготовления осуществляют следующим образом.

Вначале получают ферментативный гидролизат сухого белкового концентрата из побочных продуктов мясо-молочных производств (Концентрат сухой белковый. Технические условия ТУУ 46.15.209-97). Для этого сухой белковый концентрат смешивают с подогретой до $90 \pm 1^\circ\text{C}$ водой в количественном отношении 1:20. Затем полученную смесь охлаждают до температуры $50 \pm 1^\circ\text{C}$ и добавляют в нее 20 вес. % измельченной поджелудочной железы крупных рогатых животных или свиней. Ферментативный гидролиз осуществляют в течение 4-х часов при температуре 49°C при pH 7,9–8,0, подщелачивая реакционную смесь 33%-ным раствором едкого натра через каждый час. После окончания гидролиза гидролизат подкисляют соляной кислотой до pH 4,1, кипятят 12 минут, фильтруют под давлением. Затем устанавливают pH 7,2–7,6, кипятят 10 минут, вновь фильтруют. Готовый гидролизат используют по назначению. В полученном ферментативном гидролизате сухого белкового концентрата в зависимости от его концентрации содержится: общего азота 1750 – 1850 мг%, аминокислоты: до 0,136 цистина (цистатинин), 0,130 орнитина, 0,490 лизина, 0,610 аргинина, 0,310 аспарагиновой кислоты, 0,250 глицина, 0,300 глутаминовой кислоты, 0,240 треонина, 0,272 аланина, 0,01 пролина, 0,03 триптофана, 0,05 метионина, 0,18 валина, 0,09 фенилаланина, 0,310 лейцина (изолейцина). Готовый ферментативный гидролизат используют по назначению – как основу питательной среды для выращивания вакцинного штамма. К ферментативному

гидролизату добавляют водопроводную, деминерализованную или дистиллированную воду, как описано в настоящем примере выше.

На полученной питательной среде в условиях аэрации при постоянном перемешивании осуществляют культивирование производственного вакцинного штамма при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$.

Концентрация микробных клеток, полученных при выращивании вирусного штамма с использованием заявляемых изобретений составляет 0,8 млрд./мл, а концентрация микробных клеток, полученных с использованием прототипа составляет 0,55 млрд./мл.

В таблице приведены сравнительные характеристики заявляемой питательной среды, приготовленной заявляемым способом и известной питательной среды, приготовленной известным способом.

Эти данные иллюстрируют преимущества заявляемой среды по составу – содержанию пептонов, аминокислот. В связи с большим содержанием в ферментативных гидролизатах, получаемых в процессе осуществления заявляемых изобретений, пептонов и различных минеральных солей, исключается необходимость их добавления при приготовлении заявляемой питательной среды, что имеет значительные преимущества перед прототипными мясными переварами Хоттингера.

Сравнительные характеристики заявляемой питательной среды, приготовленной предлагаемым способом и известной питательной среды, приготовленной известным способом

Ингредиенты и показатели качества питательной среды	Известная питательная среда, полученная известным способом		Заявляемая питательная среда, полученная заявляемым способом	
	Количество вводимого компонента, л/кг	Качественные показатели	Количество вводимого компонента, л/кг	Качественные показатели
Мясной перевар Хоттингера	40		—	
Ферментативный гидролизат сухого белкового концентрата	—		30	
Вода деминерализованная	60		70	
Печеночный экстракт	10			
Пептон	0,4		—	
Двухзамещенный фосфорнокислый натрий	0,3		—	
Хлорид натрия	0,3		—	
Кислота соляная (конц.)	0,6		—	
Раствор едкого натрия (33%)	0,8		—	
Показатели качества среды:				
рН				
Аминный азот	7,8			7,8
Пептоны	200 мг %			220 мг %
Аминокислоты	0,4 %			3 %
	18 аминокислот			27 аминокислот

22376

Упорядник

Техред М.Келемеш

Коректор О. Кравцова

Замовлення 4484

Тираж

Підписне

Державне патентне відомство України,
254655, ГСП, Київ-53, Львівська пл., 8

Відкрите акціонерне товариство "Патент", м. Ужгород, вул.Гагаріна, 101