

Винахід стосується мікробіології, зокрема способів культивування мікроорганізмів, і може бути використаний при культивуванні бактерій різних груп.

Відомий спосіб культивування мікроорганізмів на поживному середовищі, яке містить джерела вуглецю, азоту, фосфору, мінеральні солі і стимулятор росту при обробці фізичними факторами [1].

Недоліком способу є те, що він має низький вихід біомаси, і для його виконання необхідні складні фізичні пристрої.

Найбільш близьким до запропонованого винаходу є спосіб культивування мікроорганізмів, в якому як стимулятор використовують бактеріородопсин і освітлення в певному режимі [2].

Недолік цього способу полягає в тому, що для його здійснення необхідне освітлення певної інтенсивності і експозиції, що ускладнює спосіб, а застосування як стимулятора росту бактеріородопсину, який є світлочутливим білком і знаходить своє застосування у біосенсорах, підвищує собівартість цільового продукту, при цьому спосіб має низький вихід біомаси.

В основу винаходу поставлене завдання вдосконалення способу культивування мікроорганізмів для збільшення виходу біомаси шляхом використання відходу мікробіологічного виробництва, яке б забезпечило зниження його собівартості.

Поставлене завдання вирішується тим, що в способі культивування мікроорганізмів шляхом посіву на поживне середовище, що містить джерела вуглецю, азоту, фосфору, мінеральні солі та стимулятор росту - продукт бактеріородопсинсинтезуючих мікроорганізмів, згідно з винаходом, як стимулятор росту використовують відхід виробництва бактеріородопсину - рідку фракцію, яку одержують після виділення бактеріородопсину із дезінтегратів бактеріородопсинсинтезуючих мікроорганізмів.

Суть винаходу полягає в тому, що для культивування мікроорганізмів використовують середовища, приготування яких здійснюють із застосуванням стимулятора - відходу виробництва бактеріородопсину, який являє собою рідину із вмістом сухої речовини 1,5%. Ця рідина містить у собі залишки клітин мікроорганізмів продуцентів бактеріородопсину, які залишаються після виділення із клітин бактеріородопсину, воду, вміст клітин. Стимулятор є рідиною прозорою, однорідною і з приємним запахом. Піддається стерилізації в автоклаві при 1 атм із збереженням своїх рістстимулюючих властивостей. Достатній час стерилізації - 20 хв при 120°C. Стимулятор легко розчиняється у воді у будь-яких співвідношеннях. Для одержання максимального ефекту допускається заміна води при приготуванні середовища на вказаний стимулятор повністю.

Приклад 1. Термофільні метилотрофні бактерії, штам Т-45 вирощують в колбах на гойдалці на поживному середовищі, приготованому на суміші стимулятора та води 1:1. Вказаний стимулятор містить 1,5% сухої речовини і одержаний після виділення бактеріородопсину із водних лізатів клітин *Halobacterium halobium* 353. Приготовлене середовище містить наступні хімічні сполуки у г/л: KCl - 0,3, MgSO₄·7H₂O - 0,6, FeSO₄·7H₂O - 0,116, ZnSO₄·7H₂O - 0,011, MnSO₄·5H₂O - 0,12, CuSO₄·H₂O - 0,015, H₃PO₄ 0,2 мл. Концентрація метанолу в середовищі 0,5 об'ємних процентів, рН 7,2. Вирощування проводять при 40°C. Вихід біомаси складає 0,5 г/л абсолютно сухої речовини (АСР). При вирощуванні за прототипом її вихід складає 0,3 г/л.

Із одержаних даних видно, що згідно із запропонованим способом, вихід біомаси вищий на 66,6%.

Приклад 2. Використовують два варіанти середовищ: 1-й - поживний агар КД (Ставропольський НДІ вакцин та сироваток), приготований на дистильованій воді, 2-й - поживний агар КД, приготований на суміші дистильованої води і рідкого відходу виробництва бактеріородопсину, що містить 1,5% сухої речовини, співвідношення компонентів 1:1. Згідно з прототипом, для 1 варіанту середовища використовували як стимулятор росту бактеріородопсин в концентрації 0,005%, а освітлення здійснювали на протязі 25-30 хв після посіву культур з інтенсивністю 10¹ ерг/см²·с. Всі культури засівали уколком мікробіологічної голки в глибину агарових пластинок і культивували при 37°C на протязі однієї доби. Потім вимірювали діаметр колоній. Застосування запропонованого способу дає більший ефект у порівнянні із прототипом (див. таблицю 1).

Приклад 3. Аналогічний прикладу 2. Стимулюючий ефект перевіряють на епіфітних та фітопатогенних мікроорганізмах, макроколонії яких вирощують на агаровому середовищі, що включає суміш картопляного відвару та рідкого відходу виробництва бактеріородопсину (1:1), варіант 2, а варіант 1 - звичайний картопляний агар (див. таблицю 2).

Приклад 4. Аналогічний прикладу 2. Стимулюючий ефект перевіряють на спорових мікроорганізмах.

Таким чином, запропонований спосіб має більшу продуктивність, ніж відомий, на величину від 10 до 200%. Крім цього, спосіб має нижчу собівартість, оскільки як стимулятор росту використовують рідкий відход виробництва бактеріородопсину.

Т а б л и ц я 1

Стимулюючий ефект рідкого відходу виробництва бактеріородопсину на капсульні і безкапсульні мікроби кишкової групи.

Штами	Варіанти середовища		Стимулюючий ефект, %
	1-й/діаметр, мм	2-й/діаметр, мм	
<i>Escherichia coli</i>			
Ca 7	8	9	11
Ca 18	6	8	33
Ca 23	6	9	50
Ca 38	7	8	14
Ca 42	4	7	75
Ca 46	4	12	200
Ca 53	7	12	71
Ca 57	4	9	125
Ca 235	4	8	100
Ca 62			
E ₁	5	7	40

Продовження табл 1

Штами	Варіанти середовища		Стимулюючий ефект, %
	1-й/діаметр, мм	2-й/діаметр, мм	
<i>Shigella dispar</i> P14	5	8	60
<i>Shigella paradyzenteria</i> Boydii P1	4	6	50
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC13883	7	10	43
1032	5	10	100
7730t4435	6	8	33
1112	7	9	29
<i>Klebsiella</i> <i>rhinoscleromatis</i>			
234	5	10	100
2594	4	9	125
808 tz	4	6	50
2707	5	9	80
7734	6	11	83
<i>Klebsiella ozaenae</i> 552t6	4	8	100

Примітка: Середні розміри колоній округлені до цілих, а проценти – до цілих також.

Т а б л и ц я 2

Дія рідкого відходу виробництва бактеріородопсину на епіфітні та фітопатогенні мікроорганізми

Штами	Варіанти середовища		Стимулюючий ефект, %
	1-й/діаметр, мм	2-й/діаметр, мм	
<i>Erwinia amylovora</i> 595a	2	4	100
<i>Erwinia chrysanthem</i> NCPB898	1,5	3,2	113
NCPB 402	2,5	4	60
<i>Erwinia herbicola</i> LMC 2565	2	4,6	130
NCPB 139	2,5	5	100
<i>Pseudomonas syringae</i> 8511	2,3	4,5	95
NCPB 281	3	6,2	106
<i>Pseudomonas cerasi</i> 8654	2,6	5,3	104

Примітка: Середні розміри діаметрів колоній бактерій після 3 днів вирощування при 28°C округлені до десятих, а проценти – до цілих.

Таблиця 3

Стимулюючий ефект рідкого відходу виробництва бактеріородопсину на спорові мікроби

Штами	Варіанти середовища		Стимулюючий ефект, %
	1-й/діаметр, мм	2-й/діаметр, мм	
Bacillus alvei ВКМ В 675	3	4	33
Bacillus badius ВКМ В 498	2	3	50
Bacillus circulans ВКМ В 639	2	3	50
Bacillus firmus ВКМ В 498	2	6	200

Продовження табл. 3

Штами	Варіанти середовища		Стимулюючий ефект, %
	1-й/діаметр, мм	2-й/діаметр, мм	
Bacillus globisporus ВКМ В 1435	2,4	7,3	204
Bacillus lentus ВКМ В 500	3	3,9	30
Bacillus pasteurii ВКМ В 1063	3,2	4,4	31
Bacillus polymyxa ВКМ В 514	4,2	6,3	50
Bacillus pulvifaciens ВКМ В 748	3,9	4,3	10
Bacillus licheniformis В 12	2	4	100
Bacillus subtilis 934	2	4	100

Примітка: Середні розміри колоній в міліметрах після 1 доби вирощування при 28°C округлені по діаметру до десятих, а проценти округлені до цілих.